



Une approche d'analyse risque/bénéfice de la consommation de poissons et produits de la mer

Véronique Sirot

► To cite this version:

Véronique Sirot. Une approche d'analyse risque/bénéfice de la consommation de poissons et produits de la mer. Santé publique et épidémiologie. AgroParisTech, 2010. Français. NNT : 2010AGPT0072 . pastel-00566527

HAL Id: pastel-00566527

<https://pastel.hal.science/pastel-00566527>

Submitted on 16 Feb 2011

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

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



Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

Spécialité : Santé publique - Epidémiologie

présentée et soutenue publiquement par

Véronique SIROT

le 8 décembre 2010

Une approche d'analyse risque/bénéfice de la consommation de poissons et produits de la mer

Directeur de thèse : **Irène MARGARITIS**

Co-encadrement de la thèse : **Jean-Charles LEBLANC**

Jury

M. Denis BARD, Professeur, Département d'épidémiologie et de recherche clinique, EHESP
Mme. Marie-Aline CHARLES, Directeur de Recherche, U1018-CESP, INSERM
M. Jean-François NARBONNE, Professeur, LPTC UMR CNRS 5255, Institut Polytechnique de Bordeaux
M. Jean-François HUNEAU, Professeur, GER Biologie et Nutrition Humaines, AgroParisTech
Mme. Irène MARGARITIS, Professeur, Unité d'évaluation sur la nutrition, ANSES
M. Jean-Charles LEBLANC, Docteur, Unité d'appréciation quantitative des risques, ANSES

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, anciennement Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, au sein de la Direction Santé Alimentation, dans l'unité Appréciation Quantitative du Risque en Physico-Chimie du Pôle d'Appui Scientifique à l'Evaluation des Risques, sous la direction d'Irène Margaritis, responsable de l'Unité d'Evaluation sur la Nutrition et les Risques Nutritionnels, et de Jean-Charles Leblanc, responsable de l'Unité Appréciation Quantitative du Risque en Physico-Chimie.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Denis Bard et Madame le Docteur Marie-Aline Charles, qui ont accepté d'être rapporteurs de ce manuscrit. Par leurs remarques constructives et leurs suggestions, ils ont contribué à en améliorer la qualité, et je leur en suis très reconnaissante. Merci également à Monsieur le Professeur Jean-François Narbonne et Monsieur le Professeur Jean-François Huneau, pour avoir accepté d'examiner ce mémoire et de faire partie du jury de ma thèse pour en évaluer le travail.

Je remercie chaleureusement les personnes qui m'ont encadrée, Irène Margaritis, pour avoir accepté de diriger cette thèse et dont l'aide précieuse m'a été indispensable, pour la confiance et la sympathie qu'elle m'a témoignées au cours de ces années de thèse, et Jean-Charles Leblanc qui m'a poussée à m'inscrire en doctorat, m'a encouragée et conseillée, tout en me laissant une grande liberté et en me faisant l'honneur de me déléguer plusieurs responsabilités dont j'espère avoir été à la hauteur.

Je remercie mes responsables à l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, et tout particulièrement Jean-Luc Volatier, responsable du Pôle d'appui scientifique à l'évaluation des risques, qui ont toujours fait en sorte que je puisse mener de front mon travail à l'Agence et ce projet de recherche. Je leur en suis extrêmement reconnaissante.

Tous mes remerciements vont également

A Philippe Verger, qui m'a offert mon premier poste à l'INRA et sans qui je n'aurais jamais travaillé sur cette étude ;

A François Mariotti, professeur référent à ABIES ;

A Céline Dumas, pour l'immense travail abattu, pour les discussions ô combien enrichissantes, ses suggestions et contributions, et pour m'avoir écoutée phosphorer et aidée à mettre en place les idées, et pour toutes les petites sucreries ramenées de voyage ;

A Loïc Desquilet, pour son appui méthodologique, sa réactivité et sa patience, et pour cette macro formidable dont l'écriture me dépasse toujours, mais qui a été un outil précieux et indispensable pour ce travail ;

A tous mes relecteurs, qui par leurs remarques et suggestions ont contribué à améliorer la qualité de ce mémoire ;

A celles qui ont également travaillé sur l'étude Calipso, Nawel, Marie-Renée et Cécilia, et celles et ceux que j'ai eu le plaisir de solliciter lors de cette étude, et qui chacun à leur tour ont contribué à ce travail et ont apporté leur pierre à l'édifice ;

A mes collègues, mes amis, et ma famille ;

A tous ceux qui y ont cru à ma place, et qui ont vu tant de courage dans cette aventure, que je n'ai eu d'autre choix que d'aller jusqu'au bout ;

Enfin, à tous ceux qui ne m'ont pas demandé « et toi, la thèse, t'en es où ? ».

Articles publiés

V Sirot, C Dumas, JC Leblanc, I Margaritis. Food and nutrient intakes of French frequent seafood consumers with regard to fish consumption recommendations: results from the CALIPSO study. *British Journal of Nutrition*. In press.

V Sirot, C Dumas, L Desquilbet, F Mariotti, P Legrand, D Catheline, JC Leblanc, I Margaritis. A restricted cubic spline approach to assess the association between high fat fish intake and red blood cell EPA+DHA content. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. In press.

V Sirot, T Guérin, JL Volatier, JC Leblanc. 2009. Dietary exposure and biomarkers of arsenic in consumers of fish and shellfish from France. *Science of the Total Environment* 407 : 1875 – 1885.

V Sirot, T Guérin, Y Mauras, Hervé Garraud, JL Volatier, JC Leblanc. 2008. Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France: CALIPSO study. *Environmental Research* 107 : 30–38.

Articles en cours de finalisation

V Sirot, JC Leblanc, I Margaritis Analyse risque/bénéfice de la consommation de produits de la mer. [A soumettre].

Communications orales

V Sirot. Risque/Bénéfice de la consommation de poisson. 4^{ème} Congrès de la Société Française de Nutrition, 10 décembre 2009, Montpellier [communication invitée].

V Sirot. Analyse bénéfice risque de la consommation de poissons. Conseil Scientifique de l'Afssa, 11 mars 2009.

V Sirot. Food consumption of fishery products: contaminants and omega 3, Calipso Study. *First International Congress on Quality of Fish and Aquaculture Products (ICQFA)*, 22-23 June 2008, Barcelona, Spain [communication invitée].

Communications affichées

V Sirot, C Dumas, D Catheline, E Kalonji, P Legrand, JL Volatier, JC Leblanc, I Margaritis. Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid (LC n-3 PUFA) intake of French fish and seafood consumers and its link with biomarkers. 5th Euro Fed Lipid Congress "Oils, Fats and Lipids: from Science to Applications", 16-19 September 2007, Goteborg, Sweden.

Valorisation scientifique relative à l'étude Calipso sur les forts consommateurs de produits de la mer, et/ou au risque/bénéfice

Articles publiés

N Bemrah, **V Sirot**, JC Leblanc, JL Volatier. 2009 Fish and seafood consumption and omega 3 intake in French coastal populations: CALIPSO survey. *Public Health Nutrition* 12 (5) : 598-608.

JC Leblanc, **V Sirot**, JL Volatier. 2009. Analyse risque-bénéfice de la consommation de poissons. *Cahiers de nutrition et de diététique* 44 : 182-188.

V Sirot, C Samieri, JL Volatier, JC Leblanc. 2008. Cadmium dietary intake and biomarker data in French high seafood consumers. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology* 18 : 400–409.

V Sirot, M Oseredczuk, N Bemrah-Aouachria, JL Volatier, JC Leblanc. 2008. Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France : CALIPSO study. *Journal of Food Composition and Analysis* 21 : 8–16.

MR Guevel, **V Sirot**, JL Volatier, JC Leblanc. 2008. A Risk-Benefit Analysis of French High Fish Consumption: A QALY Approach. *Risk Analysis* 28 (1) : 37-48.

T Guérin, **V Sirot**, JL Volatier, JC Leblanc. 2007. Organotin levels in seafood and its implications for health risk in high-seafood consumers. *Science of the Total Environment* 388 : 66–77.

P Marchand, JP Antignac, C Gade, A Venisseau, A Brosseaud, D Bertrand, EIM Qannari, **V Sirot**, A Tard, JL Volatier, JC Leblanc, F André, B Le Bizec. 2006. Prediction of the dioxin, PCB, and total WHO-TEQ values on the basis of five congener concentration: toward a new screening strategy for POPs in fish? *Organohalogen Compounds* 68 : 1928-1931.

P Marchand, JP Antignac, A Brosseaud, C Gade, A Venisseau, MR Sabatie, **V Sirot**, A Tard, JL Volatier, JC Leblanc, F André, B Le Bizec. 2006. Factors (trophic levels, fish specie, habitat, fat content...) influencing PCDD/F, PCB and PBDE concentration in fish retailed in France. *Organohalogen Compounds* 68 : 608-611.

V Sirot, A Tard, P Marchand, B Le Bizec, A Venisseau, A Brosseaud, JL Volatier, JC Leblanc. 2006. Food exposure to persistent organic pollutants among French high seafood consumers (Calipso study). *Organohalogen Compounds* 68 : 383-386.

Ouvrages ou chapitres d'ouvrage

JC Leblanc (coordinator). 2006. CALIPSO. Fish and seafood consumption study and biomarker of exposure to trace elements, pollutants and omega 3. 160 p.

JC Leblanc (coordonnateur). 2006. CALIPSO. Étude des consommations alimentaires de produits de la mer et imprégnation aux éléments traces, polluants et oméga 3. 160 p.

Communications orales

V Sirot, A Tard, P Marchand, B Le Bizec, JL Volatier, JC Leblanc. Food exposure to Persistent organic pollutants among French high seafood consumers (Calipso study). *26th Symposium International on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Dioxin 2006*, 21-25 August 2006, Oslo, Norway.

V Sirot, N Bemrah, Y Mauras, A Le Bouil, H Garraud, P Verger, T Guerin, P Legrand, D Catheline, JL Volatier, JC Leblanc. Blood Concentrations of Long Chain n-3 PUFA and Methylmercury among French High Seafood Consumers (Study Calipso). *Mercury 2006*, 6-11 August 2006, Madison, Wisconsin, USA.

A Le Bouil, A Cailleux, G Leblondel, A Turcant, B Diquet, **V Sirot**, JC Leblanc, Y Mauras. Dosage de l'arsénobétaïne : application à l'étude de l'imprégnation en arsenic chez des grands consommateurs de produits marins (étude CALIPSO). *XIV^{ème} Congrès annuel de la SFTA (Société Française de Toxicologie Analytique)*, 6-9 juin 2006, Le Touquet.

V Sirot, N Bemrah, Y Mauras, A Le Bouil, T Guerin, H Garraud, M Oseredczuk, P Legrand, D Catheline, JL Volatier, JC Leblanc. Blood Concentrations of Long Chain n-3 PUFA and Methylmercury among French High Seafood Consumers (Study Calipso). *ESBIO Conference*, 19-21 March 2006, Lisbon, Portugal.

JC Leblanc. Méthylmercure et Oméga 3 : Risque/bénéfice de la consommation de poisson. *Salon du Médec*, 16 mars 2006, Paris [communication invitée].

Communications affichées

V Sirot, N Bemrah, Y Mauras, A Le Bouil, H Garraud, T Guerin, P Legrand, D Catheline, P Verger, JL Volatier, JC Leblanc. Blood concentrations of n-3 Long Chain PUFAs and Methylmercury among French high seafood consumers (Calipso Study). *Conference ISEE/ISEA*, 2-6 Septembre 2006, Paris.

P Marchand, JP Antignac, C Gade, A Venisseau, A Brosseaud, D Bertrand, EIM Qannari, **V Sirot**, A Tard, JL Volatier, JC Leblanc, F André, B Le Bizec. Prediction of the dioxin, PCB, and total WHO-TEQ values on the basis of five congener concentration: toward a new screening strategy for the control? *Dioxin 2006*, 21-25 August 2006, Oslo, Norway.

J Dumont, H Garraud, JC Leblanc, **V Sirot**, S Christopher, WC Davis, P Shaw, M Nash, S McSheehy. Determination of Methylmercury (MeHg⁺) and inorganic Mercury (HG²⁺) in blood using GC-ICP-MS. *6th International Symposium on speciation of elements in biological, environmental and toxicological sciences (ISSEBETS 2006)*, 21-25 June 2006, Bialowieza, Poland.

S McSheehy, Donard O, Dumont J, Garraud H, Christopher S, Davis C, **Sirot V**, Leblanc JC. Methylmercury and Inorganic Mercury Determination in blood using GC-ICP-MS. *Winter Plasma conference*, January 2006, Tucson, Arizona, USA.

Table des matières

1	<i>Introduction générale</i>	21
2	<i>Synthèse bibliographique</i>	27
2.1	Risques liés à la consommation de produits de la mer	29
2.1.1	Eléments traces et métaux lourds	29
2.1.1.1	Méthylmercure	29
2.1.1.2	Arsenic	32
2.1.1.3	Cadmium	36
2.1.1.4	Organoétains	39
2.1.2	Polluants organiques persistants	40
2.1.2.1	Dioxines, furanes et polychlorobiphényles dioxin-like	40
2.1.2.2	Polychlorobiphényles	42
2.1.2.3	Retardateurs de flamme bromés	44
2.2	Bénéfices liés à la consommation de produits de la mer	46
2.2.1	Protéines	46
2.2.2	Acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la famille des omégas 3	47
2.2.2.1	Bénéfices du poisson et des AGPI-LC n-3	47
2.2.2.2	Biomarqueurs d'apports et d'effets	49
2.2.2.3	Apports recommandés en AGPI-LC n-3	49
2.2.2.4	Apports en AGPI-LC n-3 en France	51
2.2.3	Vitamines	51
2.2.3.1	Vitamine D	51
2.2.3.2	Vitamine E	52
2.2.3.3	Vitamine A	53
2.2.3.4	Vitamine B ₆	53
2.2.3.5	Vitamine B ₁₂	54
2.2.4	Oligoéléments	54
2.2.4.1	Sélénium	55
2.2.4.2	Iode	56
2.2.4.3	Zinc	56
2.2.4.4	Fer	57
2.3	Consommations de produits de la mer	59
2.3.1	Recommandations en France et à l'étranger	59
2.3.2	Consommations de produits de la pêche en France	60
2.3.2.1	En population générale	60

2.3.2.2	Chez les forts consommateurs	61
2.4	Analyses risque/bénéfice	63
2.4.1	Définitions et contexte historique.....	63
2.4.2	Méthodologies d'analyse du risque et du bénéfice	63
2.4.2.1	Risques liés aux contaminants	66
2.4.2.2	Risques ou bénéfices nutritionnels	69
2.4.2.3	Risques liés aux contaminants et bénéfices nutritionnels	70
2.4.3	Quelles solutions ?	76
3	Hypothèses de travail, objectifs et méthode.....	79
4	Etudes	85
4.1	Etude 1. Evaluation de l'exposition au méthylmercure à partir de données d'exposition alimentaire et des biomarqueurs d'exposition	88
4.1.1	Matériel et méthode	88
4.1.2	Résultats.....	94
4.2	Etude 1, Analyses complémentaires. Risques liés à l'exposition au méthylmercure	99
4.2.1	Contexte et objectif.....	99
4.2.2	Matériel et méthode	99
4.2.3	Résultats.....	100
4.3	Etude 2. Evaluation de l'exposition alimentaire à l'arsenic et biomarqueurs d'exposition	103
4.3.1	Matériel et méthode	103
4.3.2	Résultats.....	106
4.4	Etude 3. Une approche de type « splines cubiques restreints » afin de décrire l'association entre consommation de poissons très gras et concentration en EPA+DHA des hématies	112
4.4.1	Matériel et méthode	112
4.4.2	Résultats.....	115
4.5	Etude 4. Consommations alimentaires et apports nutritionnels chez des consommateurs réguliers de produits de la mer au regard des recommandations nutritionnelles.....	121
4.5.1	Matériel et méthode	121
4.5.2	Résultats.....	125
4.6	Etude 5. Analyse risque/bénéfice de la consommation de produits de la mer.....	133
4.6.1	Matériel et méthode	133
4.6.2	Résultats.....	138
5	Synthèse des principaux résultats	147

6	Discussion générale	151
6.1	Risques liés à la consommation de produits de la mer	153
6.1.1	Risques liés à l'exposition au méthylmercure	153
6.1.1.1	Exposition au méthylmercure évaluée par le questionnaire de fréquence	153
6.1.1.2	Exposition au méthylmercure calculée par le modèle pharmacocinétique	154
6.1.1.3	Evaluation du risque lié à l'exposition au méthylmercure	156
6.1.2	Risques liés à l'exposition à l'arsenic.....	158
6.1.2.1	Exposition à l'arsenic calculée par le questionnaire de fréquence via le régime complet.....	158
6.1.2.2	Exposition à l'arsenic évaluée par les biomarqueurs	161
6.1.2.3	Evaluation du risque lié à l'exposition à l'arsenic.....	162
6.2	Bénéfices liés à la consommation de produits de la mer	164
6.2.1	Bénéfices liés à l'apport d'acides gras polyinsaturés oméga 3 à longue chaîne	164
6.2.1.1	Modélisation de la relation entre consommation de poisson et teneur en EPA et DHA des hématies	164
6.2.1.2	Autres facteurs susceptibles d'impacter sur les AGPI-LC n-3 des hématies.....	168
6.2.2	Bénéfices liés aux autres nutriments	170
6.2.2.1	Apports et besoins nutritionnels des forts consommateurs de produits de la mer	170
6.2.2.2	Apports nutritionnels et limites de sécurité.....	172
6.3	Analyse risque-bénéfice de la consommation de produits de la mer	173
6.3.1	Méthodologie développée	173
6.3.2	Définition des clusters	174
6.3.3	Consommation optimale de produits de la mer définie par le modèle	175
6.3.4	Avantages et limites du modèle	178
6.3.4.1	Avantages du modèle.....	178
6.3.4.2	Limites du modèle	179
6.3.4.3	Perspectives en termes d'amélioration du modèle	181
6.3.5	Interprétation de la consommation optimale en termes de recommandations	182
7	Conclusion générale.....	187
8	Références bibliographiques	191
9	Annexes.....	213
9.1	Annexe 1. Synthèse des principaux mécanismes d'action du méthylmercure et des acides gras polyinsaturés oméga 3 à longue chaîne	215
9.2	Annexe 2. L'approche benchmark dose	219

9.3	Annexe 3. Comparaison de la part dans la consommation de produits de la mer, pour les espèces communes à l'étude Calipso et l'étude INCA2	220
9.4	Annexe 4. Application des équations de Ginsberg et Toal (2009) à la consommation optimale de produits de la mer.....	221
9.5	Annexe 5. Publications scientifiques	222

Liste des tableaux

TABEAU 1. RECOMMANDATIONS D'APPORTS EN OMEGA 3 ($\Omega 3$)	50
TABEAU 2. RECOMMANDATIONS DE CONSOMMATION DE POISSON AU NIVEAU INTERNATIONAL	59
TABEAU 3. SYNTHÈSE DES MÉTHODES RISQUE/BÉNÉFICE.....	65
TABEAU 4. CARACTÉRISTIQUES DE LA POPULATION D'ÉTUDE (N=996) ET DES SUJETS AYANT SUBI LE PRÉLEVEMENT SANGUIN (N=385)	90
TABEAU 5. TENEURS MOYENNES EN METHYLMERCURE (MeHg) DES PRODUITS DE LA MER ($\mu\text{G/G}$ POIDS FRAIS).....	94
TABEAU 6. EXPOSITION AU METHYLMERCURE (MeHg) VIA LA CONSOMMATION DE PRODUITS DE LA MER, ET CONCENTRATIONS SANGUINES DES 385 SUJETS.	97
TABEAU 7. EXPOSITION AU METHYLMERCURE CALCULÉE À L'AIDE DU QUESTIONNAIRE DE FREQUENCE (E_{QF}), CONCENTRATIONS SANGUINES EN METHYLMERCURE ET EXPOSITION CALCULÉE À L'AIDE DU MODÈLE PHARMACOCINÉTIQUE (E_{MPC}).	97
TABEAU 8. SCÉNARI DE CORRECTIONS DE FREQUENCES DE CONSOMMATION.....	101
TABEAU 9. RESULTATS DES DIFFÉRENTS SCÉNARI DE CORRECTIONS DES FREQUENCES DE CONSOMMATION SUR LES CALCULS D'EXPOSITION AU METHYLMERCURE.....	102
TABEAU 10. DESCRIPTION DES GROUPES ALIMENTAIRES DU QUESTIONNAIRE DE FREQUENCE	104
TABEAU 11. TENEURS MOYENNES EN ESPÈCES ARSENIÉES DES PRODUITS DE LA MER ($\mu\text{G/G}$ POIDS FRAIS).....	107
TABEAU 12. EXPOSITION DES 996 SUJETS À L'ARSENOBÉTAINÉ (AsB), À L'ARSENIC ORGANIQUE (As _{ORG}) ET INORGANIQUE (As _{INORG}) VIA LEUR CONSOMMATION DE PRODUITS DE LA MER ($\mu\text{G/KG PC/SEM}$).....	109
TABEAU 13. EXPOSITION DES 996 SUJETS À L'ARSENIC (As) TOTAL, ORGANIQUE ET INORGANIQUE, VIA L'ENSEMBLE DE LEUR ALIMENTATION ($\mu\text{G/KG PC/SEMAINE}$).....	110
TABEAU 14. CONCENTRATION EN ARSENIC (As) TOTAL ET INORGANIQUE DANS LES ÉCHANTILLONS D'URINE	111
TABEAU 15. COMPOSITION EN EPA ET DHA (MG/100 G DE POIDS FRAIS) DES POISSONS TRÈS GRAS (PTG, CONCENTRATION >1200 MG EPA+DHA/100 G).....	113
TABEAU 16. CARACTÉRISTIQUES, CONSOMMATIONS ET APPORTS DE LA POPULATION SELON LA CONSOMMATION DE POISSONS TRÈS GRAS (PTG).....	116
TABEAU 17. PARAMÈTRES SANGUINS ET TENEURS EN ACIDES GRAS DE LA MEMBRANE DES HÉMATIES, SELON LE QUARTILE DE CONSOMMATION DE POISSONS TRÈS GRAS (PTG)	117
TABEAU 18. DIFFÉRENCE DANS LA TENEUR MOYENNE EN EPA+DHA DES HÉMATIES (% ACIDES GRAS TOTAUX).....	119
TABEAU 19. CONSOMMATIONS ALIMENTAIRES MOYENNES ($\pm$ ECART-TYPE) DES SUJETS DE L'ÉTUDE (G/J)	126
TABEAU 20. APPORTS DE MACRONUTRIMENTS, ALCOOL ET EAU, COMPARES AUX APPORTS RECOMMANDÉS	128
TABEAU 21. APPORTS DE MICRONUTRIMENTS COMPARES AUX APPORTS RECOMMANDÉS OU AUX BESOINS NUTRITIONNELS MOYENS, ET AUX LIMITES DE SÉCURITÉ	129
TABEAU 22. CONTRIBUTION MOYENNE (%) DE CHAQUE GROUPE D'ALIMENTS AUX APPORTS NUTRITIONNELS	131
TABEAU 23. PART DE CHAQUE ESPÈCE OU PRODUIT* DANS LA CONSOMMATION DES CLUSTERS 3, 4 ET 5, SUR LA BASE DES CONSOMMATIONS DE L'ÉTUDE CALIPSO	139
TABEAU 24. CONCENTRATIONS MOYENNES DES 5 CLUSTERS POUR LES CONTAMINANTS ET NUTRIMENTS CONSIDÉRÉS.....	140
TABEAU 25. RESULTATS DE LA PROGRAMMATION LINÉAIRE POUR LES SCÉNARI 1 ET 2 (CONSOMMATIONS EN G/SEM).....	142

TABLEAU 26. APPORTS NUTRITIONNELS ET EXPOSITION AUX CONTAMINANTS CORRESPONDANT A LA SOLUTION OPTIMALE DES SCENARII 1 ET 2 (SANS LA CONTRAINTE DE 200 G POISSONS GRAS/SEM MAXIMUM).....	143
TABLEAU 27. RESULTATS DE LA PROGRAMMATION LINEAIRE POUR LES SCENARII 3 ET 4, AVEC SEPARATION DES MOLLUSQUES ET CRUSTACES DU CLUSTER 5 (CONSOMMATIONS EN G/SEM).....	144
TABLEAU 28. RATIOS RISQUE-BENEFICE CARDIOVASCULAIRE ET NEUROSENSORIEL POUR LES SCENARII 1 ET 2.....	178
TABLEAU 29. APPLICATION DES EQUATIONS RISQUES/BENEFICES DE GINSBERG ET TOAL (2009) AUX APPORTS EN EPA+DHA ET A L'EXPOSITION EN METHYLMERCURE DES SCENARII 1 ET 2	221

Liste des figures

FIGURE 1. DESCRIPTION SCHEMATIQUE DES ETAPES DE L'ETUDE CALIPSO	62
FIGURE 2. ILLUSTRATION DE LA CARACTERISATION DU DANGER ET DES ETAPES DE LA DEFINITION DES VTR	66
FIGURE 3. ILLUSTRATION DU CALCUL DETERMINISTE DE L'EXPOSITION	71
FIGURE 4. ILLUSTRATION DU CALCUL PROBABILISTE DE L'EXPOSITION	71
FIGURE 5. SITES DE L'ETUDE CALIPSO	89
FIGURE 6 : REPARTITION DES FREQUENCES DE CONSOMMATION DES 996 SUJETS	91
FIGURE 7. RATIO ENTRE L'EXPOSITION CALCULEE VIA LE QUESTIONNAIRE DE FREQUENCE ET L'EXPOSITION CALCULEE AVEC LE MODELE PHARMACOCINETIQUE (E_{QF}/E_{MPC}) EN FONCTION DE E_{QF} ($\mu\text{G}/\text{KG PC}/\text{J}$)	98
FIGURE 8. ASSOCIATION ENTRE LA TENEUR EN EPA+DHA DES HEMATIES (% DES ACIDES GRAS TOTAUX) ET LA CONSOMMATION DE POISSON TRES GRAS (EN G/SEM).	120
FIGURE 9 : COMPOSITION MOYENNE (%) DE LA RATION JOURNALIERE DES SUJETS DE L'ETUDE (HORS BOISSONS)	126
FIGURE 10. CONTRIBUTION MOYENNE (%) DE CHAQUE GROUPE DE PRODUITS DE LA MER AUX APPORTS NUTRITIONNELS (NUTRIMENTS A L'APPORT DESQUELS LES PRODUITS DE LA MER CONTRIBUENT POUR PLUS DE 10%)	132
FIGURE 11. CONTRIBUTION MOYENNE (%) DE CHAQUE GROUPE DE PRODUITS DE LA MER AUX APPORTS NUTRITIONNELS (NUTRIMENTS A L'APPORT DESQUELS LES PRODUITS DE LA MER CONTRIBUENT POUR MOINS DE 10%)	132
FIGURE 12 : SCHEMA DE QUELQUES VOIES D'ACTION NEUROTOXIQUE DU METHYLMERCURE	216
FIGURE 13. DETERMINATION DE LA BENCHMARK DOSE LOWER CONFIDENCE LIMIT (BMDL)	219

Liste des annexes

Annexe 1 : Synthèse des principaux mécanismes d'action du méthylmercure et des acides gras polyinsaturés oméga 3 à longue chaîne	215
Annexe 2 : L'approche Benchmark dose	219
Annexe 3 : Comparaison de la part dans la consommation de produits de la mer, pour les espèces communes à l'étude Calipso et l'étude INCA2.....	220
Annexe 4 : Application des équations de Ginsberg et Toal (2009) à la consommation optimale de produits de la mer	221
Annexe 5 : Publications scientifiques	222

Liste des sigles et abréviations

2,3,7,8-TCDD	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (dioxine de Seveso)
ACP	Analyse en composantes principales
AET	Apport énergétique total
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AGMI	Acide gras monoinsaturé
AGPI	Acide gras polyinsaturé
AGPI-LC n-3	Acide gras polyinsaturé à longue chaîne de la famille des oméga 3
AGS	Acide gras saturé
Ah	<i>Aryl hydrocarbon</i> (récepteur)
ANC	Apport nutritionnel conseillé
BMD	<i>Benchmark dose</i>
BMDL	<i>Benchmark dose lower confidence limit</i>
BMR	<i>Benchmark dose response</i>
BNM	Besoin nutritionnel moyen
CAH	Classification ascendante hiérarchique
CALIPSO	Consommations alimentaires de produits de la mer et imprégnation aux éléments traces, polluants et oméga 3
CSF	Excès de risque unitaire (<i>Cancer slope factor</i>)
DALY	<i>Disability adjusted life years</i>
DBT	Dibutylétain
DHA	Acide docosahexaénoïque
DHTP	Dose hebdomadaire tolérable provisoire
DJT	Dose journalière tolérable
DMA	Acide diméthylarsinique
DMTP	Dose mensuelle tolérable provisoire
DOT	Dioctylétain
DPA	Acide docosapentaénoïque
EAT	Etude de l'alimentation totale
EFSA	Autorité européenne de sécurité des aliments (<i>European Food Safety Authority</i>)
EPA	Acide éicosapentaénoïque
ERU	Excès de risque unitaire
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
GSH-Px	Glutathion peroxydase
HDL	Lipoprotéine de haute densité (<i>High Density Lipoprotein</i>)
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
IMC	Indice de Masse Corporelle
INCA	Enquête individuelle nationale de consommation alimentaire
ISSFAL	<i>International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids</i>
JECFA	Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i>)

LDL	Lipoprotéine de faible densité (<i>Low Density Lipoprotein</i>)
LOD	Limite de détection (<i>Limit of detection</i>)
LOQ	Limite de quantification (<i>Limit of quantification</i>)
MMA	Acide monométhylarsonique
MOE	Marge d'exposition (<i>Margin of exposure</i>)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé (WHO)
PBDE	Polybromodiphényléther
pc	Poids corporel
PCB	Polychlorobiphényle
PCB-DL	Polychlorobiphényle dioxin-like (de type dioxine)
PCBi	Polychlorobiphényle indicateur
PCB-NDL	Polychlorobiphényle non dioxin-like
PCDD	Polychlorodibenzo-p-dioxine
PCDF	Polychlorodibenzofurane
PNNS	Programme National Nutrition Santé
POP	Polluant organique persistant
QALY	<i>Quality adjusted life years</i>
RE	<i>Retinol Equivalent</i>
RFB	Retardateur de flamme bromé
RfD	<i>Reference dose value</i>
ROS	Espèces réactives de l'oxygène (<i>Reactiv oxygen species</i>)
SU.VI.MAX	Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants
TBT	Tributylétain
TEF	Facteur d'équivalence toxique
TEQ	Equivalent toxique
THQ	Quotient de danger (<i>Target hazard quotient</i>)
TPT	Triphénylétain
US-EPA	<i>U.S. Environmental Protection Agency</i>
VTR	Valeur toxicologique de référence
α-TE	<i>Alpha-tocopherol equivalent</i>

Glossaire

ANC	L'apport nutritionnel conseillé (ANC) est une valeur repère pour la population en bonne santé. Dans le cas des vitamines et minéraux, il est calculé à partir du besoin nutritionnel moyen. Dans le cas des acides gras, l'ANC n'est pas calculé à partir du besoin nutritionnel moyen car ce dernier ne peut être calculé pour des acides gras. Il s'agit plutôt d'apports adéquats. Ils ont été établis en considérant d'abord le besoin physiologique (lorsqu'il est défini) puis les considérations physio-pathologiques.
BMD	La <i>Benchmark dose</i> (BMD) est la dose d'exposition provoquant une réponse spécifique, généralement une augmentation de 1, 5 ou 10% de l'incidence de l'effet considéré, obtenue par modélisation statistique de la relation dose-réponse à partir de données expérimentales ou épidémiologiques. Il s'agit généralement de la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de cette dose estimée.
BNM	Le besoin nutritionnel moyen (BNM) est la quantité de nutriment qui doit être ingérée pour couvrir les besoins nets. Cette valeur résulte des valeurs acquises sur un groupe expérimental constitué d'un nombre limité d'individus et correspond à la moyenne des besoins individuels.
DHTP, DJT, DMTP	Ces doses sont des VTR établies pour une exposition à un agent par voie orale et pour un effet à seuil, exprimées pour une exposition respectivement hebdomadaire, journalière et mensuelle.
ERU (ou CSF)	L'excès de risque unitaire (ERU) est la probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu développe un effet associé à une exposition pendant sa vie entière à une unité de dose d'un agent. Il s'exprime en $(\text{masse/kg pc/j})^{-1}$.
MOE	La marge d'exposition (<i>Margin of exposure</i>) correspond au ratio entre une dose sans effet (NOAEL) ou une BMDL, et l'exposition estimée.
THQ	Le quotient de danger (<i>Target hazard quotient</i>) correspond au ratio entre l'exposition à un agent sur une période de temps spécifiée et la VTR pour la durée d'exposition correspondante.
VTR (ou RfD)	La valeur toxicologique de référence (VTR) est une appellation générique regroupant les valeurs permettant d'établir une relation entre une dose et un effet (effet à seuil de dose) ou une dose et une probabilité de survenue d'effet (effet sans seuil de dose). Les VTR sont spécifiques d'un effet (effet critique), d'une durée d'exposition et d'une voie d'exposition.

1 Introduction générale

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), dans le contexte d'une évaluation du risque sanitaire, le risque se définit comme la probabilité d'apparition d'un effet néfaste dans un organisme, un système, une population ou un sous-groupe populationnel, en réaction à l'exposition à un agent (IPCS, 2004, FAO/WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2005). Le bénéfice quant à lui se définit comme la probabilité d'apparition d'un effet positif et/ou comme la probabilité de réduction d'un risque, dans un organisme, un système, une population ou un sous-groupe populationnel, en réaction à l'exposition à un agent (EFSA, 2006a).

Le concept de l'approche risque/bénéfice liée à l'alimentation est apparu vers les années 2000 (WHO, 1997, WHO, 2006a, EFSA, 2006a). Si l'alimentation apporte les nutriments nécessaires et parfois indispensables au fonctionnement dit physiologique « normal » de l'organisme, elle est aussi le vecteur de contaminants impliqués dans les processus physiopathologiques. Traiter le risque seul, du point de vue du toxicologue, peut conduire à des recommandations d'éviction de certains aliments ou de limitation de leur consommation pouvant entraîner par l'exclusion de certains aliments des conséquences sanitaires liées à la non-couverture d'apport d'un ou plusieurs nutriments. A l'opposé, traiter du seul bénéfice, du point de vue du nutritionniste, peut conduire à l'émission de recommandations d'augmentation de consommation de certains aliments pouvant entraîner par excès de consommation des conséquences sanitaires liées au dépassement de la dose toxicologique de référence pour un ou plusieurs contaminants. Les approches risque/bénéfice sont donc nécessaires afin de proposer des recommandations de consommation cohérentes tenant compte à la fois des risques liés aux contaminants apportés par l'alimentation et des bénéfices nutritionnels de cette même consommation (Renwick et al., 2004).

Ces analyses risque/bénéfice peuvent être envisagées dès lors qu'un aliment ou un composant nutritionnel combine, à la fois, des effets potentiellement positifs et négatifs. Une telle démarche est aussi souhaitable avant de proposer une intervention telle qu'un enrichissement en vitamines et/ou minéraux. Elles peuvent aussi être utilisées pour tester, de façon théorique, une modification dans un régime alimentaire, dans le cadre d'une recommandation de santé publique par exemple. Enfin, elles sont évolutives et peuvent être reconduites dès lors que de nouvelles connaissances sont susceptibles de remettre en cause les conclusions d'une analyse précédente.

Les produits de la mer, et plus spécifiquement le poisson, se prêtent particulièrement bien à ce type d'analyse. En effet, le poisson est un vecteur majoritaire d'acides gras essentiels de la famille des oméga 3, et une source non négligeable de protéines, de vitamines A, D et E entre autres, et de minéraux tels que l'iode ou le sélénium. Pour l'ensemble de ces nutriments, le bénéfice santé est bien documenté, et en particulier pour les oméga 3. De nombreuses études ont montré une association négative entre la consommation de poisson et certaines pathologies, notamment cardiovasculaires – maladies coronaires (Daviglus et al., 1997, Hu et al., 2002, Kris-Etherton et al., 2002), accidents vasculaires cérébraux (He et al., 2004) – certains cancers (Hirose et al., 2003, Norat et al., 2005, Hughes et al., 2009), la dépression (Astorg et al., 2008b, Timonen et al., 2004) et certaines maladies neurodégénératives (Morris et al., 2003, Huang et al., 2005). Aussi le poisson est-il généralement considéré comme un aliment « bon pour la santé ».

Néanmoins, le poisson est également un contributeur parfois majoritaire de l'exposition à certains contaminants de l'environnement, comme le méthylmercure, l'arsenic et les polluants organiques persistants (dioxines, polychlorobiphényles, polybromodiphényléthers, etc.) dont les rôles dans le déclenchement ou l'aggravation de certaines pathologies sont connus. La littérature a décrit les effets neurotoxiques du méthylmercure (Harada, 1978, Harada et al., 1999, Grandjean et al., 1999), et a suggéré son implication dans une réduction des effets protecteurs des omégas 3 sur la santé cardiovasculaire. De nombreux effets toxiques des polluants organiques persistants ont également été rapportés, notamment sur le foie, les reins, la thyroïde et le système nerveux central (WHO, 2002, WHO, 2003, WHO, 2006b, AFSSA, 2006d).

Depuis peu, les instances internationales et nationales révisent les recommandations de consommation de poisson en s'appuyant sur des évaluations risque/bénéfice : il peut ainsi être noté le lancement d'une consultation de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (*Food and Agriculture Organization*, FAO) et de l'OMS sur ce sujet (2010) et des démarches engagées par des Agences telles que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) (2010), la Food standard agency au Royaume-Uni (2008), et la Food and Drug Administration aux États-Unis (2009).

L'objectif de ce travail est de déterminer dans quelle mesure, et pour quelles quantités, la consommation de poissons et autres produits de la mer présente un bénéfice nutritionnel et santé prédominant sur les risques sanitaires, et ainsi de proposer des consommations compatibles avec un fonctionnement normal de l'organisme, tout en limitant le risque vis-à-vis des contaminants apportés par l'alimentation.

Dans un premier temps, le risque lié à la consommation de produits de la mer sera étudié au travers des exemples du méthylmercure et de l'arsenic, dans une population consommant des produits de la mer deux fois par semaine et plus, suivant donc les recommandations nationales du Programme national nutrition santé (PNNS) « au moins deux fois par semaine ». Par l'analyse des consommations alimentaires et de biomarqueurs, il sera déterminé si les consommations peuvent être compatibles avec un niveau de risque acceptable d'un point de vue sanitaire.

Le bénéfice lié à la consommation de poisson sera étudié dans un second temps, par l'analyse de la relation entre la consommation alimentaire et un biomarqueur de santé cardiovasculaire. Les apports en nutriments de la population d'étude seront décrits, afin d'identifier les nutriments d'intérêt à inclure dans l'analyse risque/bénéfice. Une analyse de la littérature permettra de déterminer les rôles, les interactions et les mécanismes d'action à la fois des éléments nutritionnels et des contaminants apportés par le régime complet et non seulement par la consommation de produits de la mer.

Pour finir, une analyse conjointe du risque et du bénéfice sera proposée pour la population générale, afin d'estimer la consommation de produits de la mer permettant d'atteindre les recommandations nutritionnelles, tout en restant en-deçà des valeurs toxicologiques de référence pour les contaminants retenus.

2 Synthèse bibliographique

2.1 Risques liés à la consommation de produits de la mer

Ne seront considérés que les risques chimiques liés à la consommation de poissons et autres produits de la mer, hors biotoxines marines. Les risques microbiologiques liés à la présence de bactéries ou virus, les risques liés aux parasites ou encore le risque allergique ne seront pas traités.

Ainsi les produits de la mer sont des contributeurs, parfois très largement majoritaires, à l'exposition à de nombreux contaminants chimiques, parmi lesquels des éléments traces et des polluants organiques persistants.

2.1.1 Eléments traces et métaux lourds

2.1.1.1 Méthylmercure

Le mercure est un élément chimique naturellement présent dans l'environnement. Il est utilisé dans de nombreuses activités humaines : combustion des énergies fossiles, fabrication de batterie, peinture, industrie chimique, amalgames dentaires, etc. Les sources d'exposition sont donc à la fois environnementales (écorce terrestre) et anthropogéniques.

Le méthylmercure est une forme organique du mercure. La microflore bactérienne marine transforme le mercure métallique en méthylmercure, augmentant sa biodisponibilité et favorisant sa bioaccumulation le long de la chaîne trophique. Selon l'OMS, 99% du méthylmercure absorbé quotidiennement est d'origine alimentaire (WHO, 1990). Plus particulièrement les poissons, en particulier les poissons prédateurs car en bout de chaîne alimentaire, constituent le principal contributeur à l'exposition de l'homme (DGS, 1992, Decloitre, 1992, WHO, 2004, ANSES, en cours).

Dans les produits de la mer, le mercure est principalement retrouvé sous forme de méthylmercure (JECFA, 2004). Dans le cadre de ce travail, on ne s'intéressera donc qu'aux effets du méthylmercure, et non du mercure inorganique.

Toxicité du méthylmercure

Le méthylmercure, absorbé au niveau du tractus digestif, est transformé en un complexe méthylmercure-cystéine ($\text{CH}_3\text{HgS}(\text{Cys})$), un analogue structural de la méthionine. Il passe ainsi dans la circulation et traverse la barrière hémato-encéphalique. Le cerveau et le système nerveux central constituent les cibles privilégiées du méthylmercure.

Chez l'animal, les effets toxiques observés après une exposition à des doses élevées de méthylmercure (0,2 à 10 mg/kg poids corporel) sont des altérations visuelles, auditives et motrices, ainsi que des troubles de la sensibilité. Chez l'homme adulte, des effets ont été observés notamment en Amazonie chez des orpailleurs exposés via les amalgames de l'or avec du mercure : altération des fonctions visuelles, somato-sensorielles et motrices, de la mémoire, l'attention, la faculté

d'apprentissage et la dextérité manuelle. Si la neurotoxicité peut se manifester chez l'adulte, le cerveau en développement du fœtus est plus sensible à l'exposition car le méthylmercure passe également la barrière placentaire. Chez l'enfant exposé *in-utero*, une exposition prolongée au méthylmercure induit des dysfonctionnements moteurs et sensoriels, et un important retard mental, comme l'ont montré l'accident de Minamata, au Japon, dans les années 50 (Harada, 1978, Harada et al., 1999) et d'autres études plus récentes (Grandjean et al., 1999, Oken et al., 2005). Néanmoins toutes les études ne concordent pas, du fait notamment de l'utilisation de marqueurs d'exposition différents, d'imprécisions dans la mesure de ces marqueurs (Grandjean and Budtz-Jorgensen, 2007), et de la non prise en compte de certaines variables de confusion sur les effets .

Les mécanismes d'action neurotoxique du méthylmercure (Annexe 1) passeraient notamment par une limitation des transferts de neurotransmetteurs, altérant les fonctions neurocérébrales (Allen et al., 2001, Shanker et al., 2001, Shanker and Aschner, 2003) et promouvant la peroxydation et les dysfonctionnements neuronaux dépendant d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Aschner and Syversen, 2005).

Outre son effet neurotoxique, le méthylmercure serait associé à une réduction des effets protecteurs des omégas 3 (Acide docosapentaénoïque (DPA) et Acide docosahexaénoïque (DHA)) sanguins sur la santé cardiovasculaire (Virtanen et al., 2005, Mozaffarian and Rimm, 2006) et a aussi été proposé comme facteur de risque de maladies cardiovasculaires, notamment d'infarctus du myocarde et de cardiopathie ischémique (Guallar et al., 2002, Stern, 2005) bien que toutes les études ne concordent pas (Hallgren et al., 2001, Yoshizawa et al., 2002). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer cette association, notamment l'inhibition par le méthylmercure des systèmes antioxydants endogènes et la production de radicaux libres (NRC, 2000), induisant une augmentation des lipoprotéines de faible densité (LDL) oxydés (Andersen and Andersen, 1993, Salonen et al., 2000) qui contribuent au processus d'athérosclérose (Stocker and Keaney, 2004).

Par ailleurs, le mercure réduirait les transferts ioniques et provoquerait des changements dans les fonctions plaquettaires, notamment l'agrégation plaquettaire induite par l'adenosine diphosphate (Kumar and Bhattacharya, 2000, Kumar et al., 2001, Kumar et al., 2002) et une hypercoagulation (Wierzbicki et al., 2002). En perturbant le fonctionnement cellulaire et les réponses inflammatoires, l'exposition au méthylmercure déclenche une réponse apoptotique de la cellule, dose-dépendante et croissante avec la durée d'exposition (InSug et al., 1997).

Enfin, le méthylmercure inhiberait la formation et la migration des cellules endothéliales, de façon dose-dépendante, favorisant l'hypertension et l'artériosclérose (Kishimoto et al., 1995).

Biomarqueurs d'exposition et d'effets

Les biomarqueurs d'exposition à long terme au mercure et au méthylmercure, mais également les biomarqueurs d'effet neurotoxique, sont les concentrations de mercure et méthylmercure dans le sang et le cheveu. Un ratio de l'ordre de 250 L/kg (range 140-370) a été décrit entre la concentration

capillaire (en µg/kg) et la concentration sanguine (en µg/L) (WHO, 2004, NRC, 2000, Kershaw et al., 1980, Phelps et al., 1980), avec des variations selon l'âge (Budtz-Jorgensen et al., 2004).

Les biomarqueurs d'effet cardiovasculaire sont plus controversés. En effet, si certaines études n'ont pas montré d'association significative entre le mercure ou le méthylmercure sanguin, capillaire ou onguinaire, et mortalité ou prévalence de maladie cardiovasculaire (Ahlqwist et al., 1999, Yoshizawa et al., 2002), d'autres en revanche ont mis en évidence une relation (Salonen et al., 1995, Guallar et al., 2002, Virtanen et al., 2005). Dans une cohorte de 1871 finlandais, Virtanen a observé un accroissement du risque cardiovasculaire dès le second tertile de concentration capillaire de mercure (0,84-2,02 µg/g, soit 3,36-8,08 µg/L sang). Comparativement au premier tertile (<0,84 µg/g cheveu) le risque d'infarctus du myocarde était 1,60 fois plus élevé dans le dernier tertile (>2,03 µg/g cheveu, ou 8,12 µg/L sang), le risque de maladie cardiovasculaire 1,68 fois plus élevé, et le risque de décès de façon générale 1,38 fois plus élevé (Virtanen et al., 2005).

Valeur toxicologique de référence

En 2004, le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*, JECFA) a procédé à la réévaluation du méthylmercure en s'appuyant sur des études d'exposition mère/enfant aux Iles Féroé (Budtz-Jorgensen et al., 1999, Budtz-Jorgensen et al., 2000, Budtz-Jorgensen et al., 2001, Rice et al., 2003) et aux Seychelles (US-ATSDR, 1999). Le comité a proposé une dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) de 1,6 µg/kg pc/sem (WHO, 2004). Cette dose correspond à une concentration sanguine moyenne chez la mère de 56 µg/L, sans effet pour le fœtus, calculée à partir d'une concentration capillaire de 14 mg/kg. Un modèle pharmacocinétique permet alors de calculer l'apport correspondant, à partir de l'équation suivante :

$$d = \frac{C \cdot b \cdot V}{A \cdot f \cdot PC}, \text{ où}$$

- C correspond à la concentration de méthylmercure dans le sang (µg/L) ;
- b correspond à la constante d'élimination du méthylmercure (0,014/jour) ;
- V correspond au volume sanguin (9% du poids corporel pour une femme enceinte) ;
- A correspond à la fraction d'absorption du méthylmercure (0,95) ;
- f correspond à la constante de distribution du méthylmercure aux tissus (0,05) ;
- PC correspond au poids corporel (65 kg pour une femme enceinte) ;
- d correspond à la dose de méthylmercure ingérée (µg/kg de poids corporel/jour).

La DHTP est extrapolée en divisant l'apport calculé (dose) par des facteurs d'incertitude tenant compte de la variabilité interindividuelle de la relation cheveu/sang (facteur 2) et de la relation apport alimentaire/concentration sanguine (composante pharmacocinétique, facteur 3,2).

A la demande du *Codex Committee on Food Additives and Contaminants*, le JECFA a mené une réflexion sur la pertinence de la DHTP de 1,6 µg/kg pc/sem (fixée pour la population générale adulte)

pour les populations sensibles, notamment les femmes enceintes. Le Comité a conclu en 2007 que, concernant l'exposition du fœtus, compte tenu des données scientifiques disponibles (toxicocinétiques, toxicologiques et épidémiologiques), il n'était pas nécessaire de revoir la DHTP (WHO, 2007). Concernant les nourrissons, enfants et adolescents, le Comité soulignait le fait que peu d'études aient caractérisé distinctement l'exposition *in utero* et l'exposition après la naissance. Néanmoins, aucune nouvelle donnée ne permettait de remettre en cause la DHTP pour ce groupe, pas plus que pour les adultes.

A titre de précaution, l'AFSSA en 2002, 2004, 2006 et 2009, a émis des recommandations spécifiques pour les populations à risque, à savoir les femmes enceintes ou allaitant et les très jeunes enfants (AFSSA, 2002a, AFSSA, 2004, AFSSA, 2006c, AFSSA, 2009d) :

- diversifier les espèces de poisson consommées ;
- limiter la consommation d'espèces prédatrices (susceptibles de présenter des niveaux élevés de méthylmercure) ;
- éviter la consommation d'espadon, marlin, siki, requins et lamproie.

Données d'exposition alimentaire chez l'homme

En France, l'exposition alimentaire au méthylmercure a été évaluée pour la population générale (ANSES, en cours). Elle est en moyenne de 0,12 µg/kg pc/sem chez les adultes de 18 ans et plus, 0,13 µg/kg pc/sem chez les femmes en âge de procréer (18-44 ans), et 0,16 µg/kg pc/sem chez les enfants de 3 à 17 ans. Au 95^e percentile, l'exposition s'élève à 0,43 µg/kg pc/sem chez les adultes, 0,47 µg/kg pc/sem chez les femmes en âge de procréer, et 0,68 µg/kg pc/sem chez les enfants. Toutes ces valeurs sont en-dessous de la DHTP de 1,6 µg/kg pc/sem. On note 0,84% de dépassement de la valeur toxicologique de référence (VTR) chez les adultes [IC_{95%} : 0,4 ; 1,3], 0,72% chez les femmes en âge de procréer [IC_{95%} : 0,4 ; 1,1], et 1,11% chez les enfants [IC_{95%} : 0,6 ; 1,7].

L'exposition des femmes enceintes et des enfants a été évaluée dans de nombreux pays. Parmi les récents travaux, citons Ortega-Garcia et al, qui ont estimé l'exposition moyenne d'une population de femmes enceintes espagnoles à 0,88 µg/kg pc/sem, avec 15% de dépassement de la DHTP du JECFA (Ortega-Garcia et al., 2008). L'exposition moyenne des enfants était de 2,60 µg/kg pc/sem pour les 1-5 ans et de 2,65 µg/kg pc/sem pour les 6-10 ans, soit plus que la DHTP. Les principaux contributeurs alimentaires pour les différents sous-groupes de population étaient l'espadon et le thon, des poissons prédateurs dont les teneurs en méthylmercure sont souvent élevées.

2.1.1.2 Arsenic

Toxicité de l'arsenic

L'arsenic est un élément naturellement présent dans l'environnement. Il a également des origines anthropiques : rejets des incinérateurs et des industries, produits phytosanitaires, alliages pour la fabrication de cellules photovoltaïques ou de diodes, etc.

L'alimentation est la voie d'exposition principale à l'arsenic, les produits de la mer constituant le vecteur majoritaire chez les adultes comme les enfants (Leblanc et al., 2005). L'arsenic est absorbé au niveau gastro-intestinal, le taux d'absorption dépend fortement de la matrice et des espèces arséniées présentes, organiques ou inorganiques. L'arsenic total et l'arsenic inorganique sont largement excrétés principalement dans les urines. Les espèces organiques et les arsénosucres sont très peu métabolisés. En revanche l'arsenic inorganique subit de nombreuses transformations chez l'homme pour qui la principale voie métabolique de détoxification est la méthylation.

L'arsenic pentavalent ou arsenate (AsV) est d'abord réduit en arsenic trivalent ou arsenite (AsIII), en présence de glutathion ou d'un autre thiol. L'arsenite est lui-même méthylé, principalement dans le foie. Les métabolites organiques finaux sont les acides monométhylarsonique (MMA) et diméthylarsinique (DMA), moins réactifs que l'arsenic inorganique et principalement éliminés dans les urines. Au cours de ces réactions, des produits intermédiaires très réactifs sont formés, le MMA(III) et le DMA(III).

Il est admis que sous sa forme inorganique, l'arsenic est plus toxique que sous sa forme organique. Peu d'études ont été menées à ce jour sur la toxicité de l'arsenic organique. Sa forme principale, l'arsénobétaine, n'est pas considérée préoccupante (EFSA, 2009a). Les arsénosucres et arsénolipides sont quant à eux métabolisés en diméthylarsinate (Schmeisser et al., 2006, Raml et al., 2009), mais il n'existe pas de données toxicologiques sur ces espèces.

Une exposition aiguë à l'arsenic inorganique entraîne vomissements, douleurs abdominales et diarrhées, ainsi que des irritations respiratoires chez l'homme comme chez l'animal, une neuropathie périphérique et des effets cardiovasculaires et hématopoïétiques (WHO, 2010).

Chez l'animal, une exposition chronique à l'arsenic inorganique provoque des troubles gastro-intestinaux, respiratoires, et des troubles des fonctions de reproduction, immunologique et du système nerveux (WHO, 2010). Les études expérimentales de cancérogenèse chez l'animal sont encore controversées. Néanmoins, en 2009, l'International Agency for research on cancer (IARC) a classé l'arsenic inorganique et ses composés comme cancérogènes pour l'homme (groupe 1). Ils causeraient notamment des cancers de la peau, du poumon et de la vessie, et avec un niveau de preuve plus faible, du rein, du foie et de la prostate (Straif et al., 2009, WHO, 2010).

Une exposition prolongée à l'arsenic inorganique serait également associée de façon dose-dépendante à l'apparition de problèmes de peau comme l'hyperkératose et des modifications de pigmentation (Wu et al., 1989, Chen et al., 1992). Plus récemment l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a répertorié des effets similaires suite à des ingestions d'eau contenant moins de 100 µg/L d'arsenic inorganique (EFSA, 2009a). D'autres effets ont également été rapportés, notamment sur le développement fœtal (avortement spontané, naissances prématurées, mortalité infantile accrue, etc.), des effets cardiovasculaires et une neurotoxicité périphérique et centrale (WHO, 2010).

Bien que le rôle de l'arsenic et les mécanismes d'action de la phase d'initiation du processus cancéreux ne soient pas encore clairement identifiés, le stress oxydant pourrait être impliqué. Les espèces arséniées provoqueraient une libération de ferretine (et donc de fer) stimulant la production

d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (Ahmad et al., 2000, NRC, 2001). Chez l'animal, une ingestion prolongée d'eau arsénisée entraînerait une réduction des niveaux de glutathion hépatique total, ainsi qu'une réduction des concentrations et activités enzymatiques, notamment de la catalase hépatique, de la glutathion S-transférase et de la glutathion réductase. La production de malondialdéhyde serait ainsi augmentée, traduisant une augmentation de la peroxydation lipidique (Santra et al., 2000).

Biomarqueurs d'exposition

L'arsenic onguilaire semble être un bon marqueur d'exposition à l'arsenic total. Néanmoins la contribution de chaque source d'exposition (ingestion d'aliments ou d'eau, inhalation de poussières, exposition dermale) n'est pas clairement définie. Slotnick et Nriagu ont recensé quelques études ayant rapporté des corrélations entre l'arsenic onguilaire et l'arsenic de l'eau de boisson ($r = [0,46 ; 0,68]$) (Slotnick and Nriagu, 2006). L'arsenic capillaire semble également être un bon marqueur, car l'arsenic se lie facilement à la kératine présente dans les cheveux comme dans les ongles.

Plus de 60% de l'arsenic ingéré est excrété par les urines (Mappes, 1977), aussi l'arsenic total urinaire est-il le biomarqueur le plus couramment utilisé, qu'il s'agisse d'exposition alimentaire comme environnementale. Sa concentration est stable sur de courtes périodes (quelques jours), en particulier pour des populations dont les apports sont réguliers (Calderon et al., 1999). La concentration est le plus souvent ajustée sur le taux de créatinine afin de tenir compte de la variation intra et interindividuelles de dilution. Néanmoins l'apport d'arsenic via la consommation de produits de la mer, qui contiennent beaucoup d'arsenic sous forme organique (arsenobétaine notamment), augmente la concentration d'arsenic total dans les urines, ce qui tend à surestimer l'exposition alimentaire (Arbouine and Wilson, 1992, Buchet et al., 1994).

Quelques études plus récentes suggèrent que l'arsenic sanguin pourrait être un bon marqueur d'exposition, dans le cas d'une exposition chronique à l'arsenic inorganique (EFSA, 2009a).

A ce jour, aucun marqueur spécifique d'effet n'a pu être identifié.

Valeurs toxicologiques de référence pour l'arsenic et l'arsenic inorganique

L'OMS a fixé une DHTP pour l'arsenic total en 1967 à 350 µg/kg pc/sem (WHO, 1967).

Concernant l'arsenic inorganique, plusieurs agences ont proposé des valeurs toxicologiques de référence, de 0,3 µg/kg pc/jour (US EPA, 1993) à 1 µg/kg pc/jour (RIVM, 2001) définies sur la base d'effets non cancérogènes (hyperpigmentation, kératose et maladie des pieds noirs). La valeur de 0,3 µg/kg pc/jour a été retenue par l'AFSSA pour les effets non cancérogènes (AFSSA, 2009c).

Par ailleurs, l'Environmental Protection Agency (US-EPA) a calculé une VTR sans seuil à partir d'un modèle linéaire très conservateur à plusieurs compartiments, dont le point critique était l'apparition d'un cancer de la peau. L'évaluation du risque, dans ce cas pour un contaminant cancérogène à effet sans seuil, est donc faite sur la base d'un excès de risque unitaire (ERU ou « *risk unit* »). En s'appuyant sur des études taïwanaises (Tseng et al., 1968, Tseng, 1977) et en utilisant les valeurs

américaines pour la consommation d'eau et le poids corporel, l'US-EPA a calculé un ERU pour la consommation d'eau de boisson à $1,5 \cdot 10^{-3}$ ($\mu\text{g/kg pc/jour}$)¹. Autrement dit, pour une exposition de $1 \mu\text{g/kg pc/jour}$ d'arsenic inorganique sur la vie entière, le risque de développer un cancer de la peau est estimé à $1,5 \cdot 10^{-3}$ [$1 \cdot 10^{-3}$ pour les femmes consommant 2 L d'eau/jour; $2 \cdot 10^{-3}$ pour les hommes consommant 3,5 L d'eau] (US EPA, 1988, US EPA, 1993). Un risque considéré comme inacceptable ($5 \cdot 10^{-4}$) est donc atteint pour un individu de 60 kg buvant 2 litres d'eau par jour, contaminée à la valeur réglementaire ($10 \mu\text{g/L}$) (European Commission, 1998). En 2009, l'AFSSA a extrapolé une dose virtuellement sûre (DVS) de $0,05 \mu\text{g/kg pc/j}$ en admettant un niveau de risque de cancer cutané de $1 \cdot 10^{-4}$ (AFSSA, 2009c).

En 2009, l'EFSA a conduit une réévaluation du risque lié à l'exposition à l'arsenic inorganique, en s'appuyant sur des études épidémiologiques récentes et sur une approche *benchmark dose* (BMD) (Annexe 2)¹. L'EFSA a calculé une *Benchmark dose lower confidence limit* ou BMDL_{01} de $0,3\text{-}8 \mu\text{g/kg pc/j}$, considérant chaque effet sanitaire potentiellement critique de l'exposition à l'arsenic inorganique. Compte tenu de l'incertitude autour de la forme de la relation dose-réponse, les experts ont jugé qu'il n'était pas possible de dériver une DHTP à partir de cette BMDL, et que par conséquent les marges d'exposition (*Margin of exposure*, MOE, correspondant au ratio entre la BMDL et l'exposition) devaient être calculées pour chaque population. Le JECFA en 2010 a également proposé une $\text{BMDL}_{0,5}$ à $3 \mu\text{g/kg pc/j}$ ([2-7], basée sur une fourchette de l'estimation de l'exposition alimentaire journalière totale), à partir d'études épidémiologiques plus récentes (JECFA, 2010a).

Aucune valeur n'a été proposée à ce jour concernant l'arsenic organique.

Données d'exposition alimentaire chez l'homme

En Europe, l'apport quotidien d'arsenic total chez l'adulte avait été estimé en 2004 à $125 \mu\text{g}$ (Commission Européenne, 2004), soit $12,5 \mu\text{g/kg pc/sem}$ pour un adulte de 70 kg. L'EFSA a récemment réévalué cet apport à $0,45\text{-}4,31 \mu\text{g/kg pc/j}$, soit $3,15\text{-}30,2 \mu\text{g/kg pc/sem}$ (EFSA, 2009a). Plus précisément en France, l'apport a été évalué à $0,78 \mu\text{g/kg pc/j}$ chez les adultes, soit $5,4 \mu\text{g/kg pc/sem}$ (ANSES, en cours), ce qui correspond à la fourchette basse de l'exposition évaluée par l'EFSA. La moitié de cet apport ($0,37 \mu\text{g/kg pc/j}$) provient de la consommation de produits de la mer.

Si les formes organiques (arsénobétaine, arsénocholine, acides monométhylarsonique et diméthylarsinique) prédominent dans les produits de la mer, les formes inorganiques sont majoritaires dans les céréales, les viandes, les produits laitiers, l'eau et les boissons. Plus précisément, l'OMS estime que l'arsenic inorganique représente 75% de l'arsenic total dans les viandes et les produits laitiers, 65% dans les volailles et les céréales, 10% dans les fruits et 5% dans les légumes (WHO-IPCS, 2001). Dans l'eau et les autres boissons, il est considéré que 100% de l'arsenic est sous forme inorganique (US EPA, 2001b). Enfin dans les produits de la mer, 0,4 à 5,3% de l'arsenic seraient sous forme inorganique et le reste serait principalement de l'arsénobétaine (Schoof et al., 1999, Velez and

¹ Voir l'annexe pour la définition des termes et la détermination des valeurs.

Montoro, 2001, Borak and Hosgood, 2007). La consommation de produits de la mer apporte donc de l'arsenic en grande quantité : 90% dans le régime américain par exemple (Adams et al., 1994), ou 62% dans le régime français (Leblanc et al., 2005). Néanmoins, la contribution de ces produits dans l'apport quotidien d'arsenic inorganique est relativement basse.

Du fait de la difficulté d'analyse des différentes espèces chimiques de l'arsenic, peu d'études ont estimé l'apport alimentaire d'arsenic inorganique, ou seulement à partir d'un nombre limité d'aliments (Nakamura et al., 2008, Baeyens et al., 2008). Quelques études l'ont évalué en s'appuyant sur des hypothèses de part d'arsenic inorganique dans la concentration d'arsenic total. Ainsi, une étude a estimé l'apport d'arsenic inorganique au Canada entre 8,3 et 14 $\mu\text{g/j}$, et aux Etats-Unis entre 4,8 et 12,7 $\mu\text{g/j}$ (Yost et al., 1998). Partant du postulat que l'arsenic inorganique représente 10% de l'arsenic total dans les produits de la mer, et 100% dans les autres aliments, une étude américaine a estimé cet apport à 5,36-12,54 $\mu\text{g/j}$, mais avec une très faible contribution de l'eau de boisson (Tao and Bolger, 1999). Plus récemment, l'EFSA a utilisé des hypothèses de spéciation pour les produits de la mer s'appuyant sur nos travaux (Etude 2, chapitre 4.3) et pour les autres produits différents scenarios, à 50, 70 et 100% d'arsenic inorganique (EFSA, 2009a). L'apport moyen d'arsenic inorganique a été estimé à 0,21-0,61 $\mu\text{g/kg pc/j}$, soit 14,7-42,7 $\mu\text{g/j}$ pour un adulte de 70 kg.

Pour la population française adulte, l'exposition moyenne à l'arsenic inorganique a été estimée lors de la seconde étude de l'alimentation totale à 0,24-0,28 $\mu\text{g/kg pc/j}^1$ (hypothèses basse et haute) (ANSES, en cours). La contribution des produits de la mer à cette exposition n'est que de 1,5-1,7%. Tenant compte de la $\text{BMDL}_{0,5}$ de 3,0 $\mu\text{g/kg pc/j}$ du JECFA (voir paragraphe 2.1.1.2), la marge d'exposition calculée à partir de l'exposition moyenne est donc de 11-13. Au 95^e percentile d'exposition, la marge d'exposition est de 2-3. Selon le rapport de l'EFSA, une faible marge d'exposition représente une forte préoccupation de santé publique et ne permettent pas d'exclure un risque sanitaire pour certains groupes de population (EFSA, 2009a, EFSA/WHO, 2005). Les faibles marges d'exposition pour l'arsenic inorganique traduisent donc une nécessaire gestion du risque afin de réduire les expositions.

2.1.1.3 Cadmium

Le cadmium (Cd) est un élément présent naturellement dans des sols du fait de l'érosion principalement, mais aussi des activités industrielles et agricoles. Sa forte biodisponibilité pour les plantes implique qu'on le retrouve rapidement le long de toute la chaîne alimentaire. Ainsi pour les non-fumeurs, et hors exposition professionnelle, l'alimentation est la principale source d'exposition au cadmium.

¹ Dans l'étude de l'alimentation totale, l'exposition à l'arsenic inorganique a été calculée à partir de l'exposition à l'arsenic total, en appliquant des hypothèses quant à la part de l'arsenic inorganique dans les aliments. Deux hypothèses ont été émises pour cette part, estimée par des valeurs basses et hautes issues de la littérature : YOST, L. J., TAO, S. H., EGAN, S. K., BARRAJ, L. M., SMITH, K. M., TSUJI, J. S., LOWNEY, Y. W., SCHOOF, R. A. & RACHMAN, N. J. 2004. Estimation of dietary intake of inorganic arsenic in US children. *Hum Ecol Risk Assess*, 10, 473-83.

Toxicité du cadmium

L'absorption du cadmium chez l'homme adulte est relativement faible, de l'ordre de 5 à 10%, et légèrement supérieure chez l'enfant. Une fois absorbé, il se fixe sur les érythrocytes via une métallothionéine MT, présentant des groupements –SH. La fraction de cadmium non liée est certainement à l'origine de la toxicité rénale de ce contaminant. Sa demi-vie biologique est longue (10 à 30 ans), et sa demi-vie sanguine d'une centaine de jours (EFSA, 2009b).

C'est un cancérogène pour l'homme (classé dans le groupe 1 par l'IARC) (IARC, 1994). Ses principaux effets toxiques sont des atteintes de la fonction rénale. La néphrotoxicité se caractérise en premier lieu par une dégénérescence et une atrophie des tubules proximaux, diminuant la réabsorption tubulaire, et une micro-protéinurie (Nogawa et al., 1989, Staessen et al., 1996, Jarup et al., 2000, Satarug and Moore, 2004). Des symptômes caractérisant la maladie Itai-Itai ont également été rapportés, notamment une fragilité osseuse : réduction de la densité minérale, déformations, réduction de l'activité ostéoclastique et de la minéralisation. De récentes études américaines rapportent un risque accru de fractures (+43%) pour un niveau de cadmium urinaire de 0,5-1 µg/g créatinine (Gallagher et al., 2008) et un risque accru d'ostéoporose de +78% et 280%, pour des concentrations urinaires de 1-1,99 et >2 µg/g créatinine, respectivement (Wu et al., 2009). Des troubles de la reproduction, pouvant être des effets secondaires des dysfonctionnements rénaux, ont également été rapportés (Ohta et al., 2002, Inaba et al., 2005).

Biomarqueurs d'exposition et d'effets

Si le cadmium sanguin semble constituer un bon marqueur de l'exposition à court terme, le cadmium urinaire semble être le meilleur marqueur non invasif de l'exposition à long terme. Sa valeur doit être corrigée par le taux de créatinine afin de tenir compte de l'élimination liée à la masse musculaire. La bêta-2-microglobuline, une protéine produite par le système lymphoïde intervenant dans la réponse immunitaire, est le biomarqueur le plus couramment utilisé. Mais il n'est pas spécifique du cadmium et sa concentration est fortement liée à l'âge.

Plus récemment, un autre biomarqueur du dysfonctionnement tubulaire rénal a été proposé : la N-acetyl-p-D glucosaminidase urinaire, une enzyme retrouvée dans les lysosomes des cellules épithéliales des tubules proximaux. Sa concentration serait significativement associée à la prévalence de dysfonctionnement rénal (Thomas et al., 2009).

Valeur toxicologique de référence du cadmium

En 2001, le JECFA avait fixé une DHTP à 7 µg/kg pc/sem (WHO, 2001). Mais il a été suggéré qu'une exposition inférieure à cette valeur pouvait provoquer des effets néfastes sur la santé (Satarug and Moore, 2004). En 2007, Omarova et Phillips ont réalisé une méta-analyse de 79 études traitant de la relation entre apport de cadmium et biomarqueurs de toxicité chez plus de 27 000 sujets. Ils notent une augmentation exponentielle de bêta-2-microglobuline avec l'apport de cadmium (dès lors qu'il est

supérieur à 302 µg/jour), ce qui correspond, en appliquant un facteur d'incertitude de 10, à une DHTP de 3,02 µg/kg pc/sem (Omarova and Phillips, 2007).

En 2008, l'EFSA a proposé une DHTP plus basse, à 2,5 µg/kg pc/sem (EFSA, 2009b), en s'appuyant sur l'analyse de 165 résultats moyens issus de 35 études épidémiologiques sur environ 30 000 sujets, principalement asiatiques et caucasiens de plus de 50 ans. Cette nouvelle évaluation s'appuie sur une approche de type *benchmark dose* (Annexe 2). Elle considère comme effet critique l'excrétion urinaire de cadmium mesurée par la bêta-2-microglobuline. La relation dose-réponse est modélisée par une courbe de Hill, et le niveau de réponse (*Benchmark Response* à 5%, ou BMR₅) retenu est de 300 µg bêta-2-microglobuline/g créatinine. La dose correspondante (BMDL₅) est de 4 µg Cd/g créatinine. Un facteur d'incertitude de 3,9 a été appliqué pour la variabilité interindividuelle de la toxicodynamique (ethnie, surreprésentation des femmes dans les études, etc.), conduisant à une dose corrigée de 1 µg Cd/g créatinine. Puis un modèle pharmacocinétique mono-compartiment a été utilisé afin de calculer la dose de cadmium ingéré correspondant à cette BMDL₅, soit 2,5 µg/kg pc/sem.

En 2010, le JECFA a proposé une nouvelle VTR de 25 µg/kg pc/mois pour l'ensemble de la population (soit 3,6 µg/kg pc/sem) (JECFA, 2010b), donc plus élevée que celle de l'EFSA. Cette valeur s'appuie sur une concentration urinaire critique de 5,24 µg Cd/g créatinine [4,94 ; 5,57], en-dessous de laquelle aucune augmentation de l'excrétion de la bêta-2-microglobuline n'est observée chez des sujets de plus de 50 ans (contre 4 µg Cd/g créatinine comme valeur critique pour l'EFSA)¹. De la même façon que pour l'EFSA, un modèle pharmacocinétique mono-compartiment a été utilisé pour calculer la dose de cadmium ingéré correspondant (borne inférieure de l'intervalle de confiance autour du 5^e percentile d'exposition).

Données d'exposition alimentaire chez l'homme

L'exposition alimentaire moyenne au cadmium en France, en population générale adulte, a été estimée en 2010 à 0,16 µg/kg pc/j (ANSES, en cours), soit 1,12 µg/kg pc/sem, ce qui est en-dessous de la nouvelle VTR de l'EFSA. Le 95^e percentile s'élève à 0,27 µg/kg pc/j, soit 1,89 µg/kg pc/sem, ce qui est au-dessus de la DHTP. Dans l'ensemble des pays européens (16 pays pour lesquels des données sont disponibles), la médiane des expositions moyennes au cadmium est de 2,27 µg/kg pc/sem [1,89-2,96] pour un adulte de 60 kg (EFSA, 2009b). Il faut néanmoins noter que la VTR de l'EFSA de 2,5 µg/kg pc/sem est très protectrice au regard de l'effet biologique précoce pour une exposition de 50 ans au moins, et non de la survenue d'un effet sanitaire.

Le facteur 2 observé entre l'exposition estimée en France et les valeurs présentées dans le rapport européen s'explique par les très faibles limites analytiques dans l'étude de l'alimentation totale française (limite de détection (*limit of detection*, LOD) de 0,0008 mg/kg contre des limites de l'ordre de 0,05 mg/kg). Ces limites très basses ont permis une estimation plus fine de l'exposition réelle, là où pour des limites plus hautes, l'exposition est certainement surestimée par des hypothèses de traitement de la censure (données censurées remplacées par ½ LOD).

¹ Le détail de la détermination de cette valeur toxicologique de référence (monographie du JECFA) n'était pas publié au moment de la rédaction de ce manuscrit.

Les produits céréaliers et les légumes apparaissent comme les principaux contributeurs à l'exposition au cadmium. Les mollusques et crustacés de façon générale présentent des concentrations élevées en cadmium (jusque 4 mg/kg) (Sirot et al., 2008c), mais du fait d'une faible consommation en population générale, contribuent peu à l'exposition totale (5,5%) (ANSES, en cours). Néanmoins, une consommation très élevée de ces produits peut entraîner une exposition dépassant les valeurs de référence (Sirot et al., 2008c), et *a fortiori* de la plus basse VTR déterminée par l'EFSA qui conclut, dans son rapport, que l'exposition au cadmium doit être réduite, en particulier chez les groupes à risque (dont les fumeurs) pour lesquels l'exposition moyenne peut atteindre deux fois la VTR.

2.1.1.4 Organoétains

L'étain (Sn) est un métal naturellement présent dans la croûte terrestre mais peu abondant (2 mg/kg en moyenne). Il est présent principalement sous forme Sn(II) et Sn(IV). Les boues de station d'épuration, ainsi que les activités anthropiques (centrales thermoélectriques notamment), contribuent à la contamination de l'environnement par l'étain. Dans les denrées alimentaires, il peut être présent sous forme inorganique ou organique (organoétains) en proportions variables. A notre connaissance, les formes organiques et inorganiques n'ont jamais été quantifiées dans les mêmes échantillons alimentaires ; peu de données sont ainsi disponibles sur la spéciation de l'étain dans les aliments. Il est cependant considéré que les produits animaux marins contiennent de l'étain majoritairement sous forme organique, la forme la plus toxique, et constituent la source quasi exclusive d'exposition aux organoétains chez l'homme (EFSA, 2004b). L'étain inorganique, peu absorbé, est quant à lui considéré comme peu toxique. Il provoque surtout des irritations au niveau local.

Toxicité des organoétains et valeur toxicologique de référence

Parmi les organoétains, le tributylétain (TBT), le dibutylétain (DBT) et le triphénylétain (TPT) sont considérés comme les plus toxiques. Des études chez l'animal suggèrent que ces composés seraient des perturbateurs endocriniens, provoqueraient des perturbations de la fonction reproductive et sur le développement, mais aussi sur le système immunitaire.

En 2004, l'EFSA a retenu une NOAEL de 0,025 mg/kg pc/j, pour les effets immunotoxiques observés chez le rat exposé deux ans à l'oxyde de TBT (Wester et al., 1990, Vos et al., 1990). En appliquant un facteur de sécurité de 100, une DJT de groupe a été retenue pour le TBT, DBT, TPT et dioctylétain (DOT), considérant que le potentiel toxique et les mécanismes d'action du TBT et des autres composés étaient les mêmes (EFSA, 2004b). Cette DJT est de 0,25 µg/kg pc/j (basée sur la masse moléculaire de l'oxyde de TBT), soit une DJT de 0,1 µg/kg pc/j exprimée en µg d'étain total.

Données d'exposition alimentaire chez l'homme

L'exposition moyenne à la somme TBT, DBT et TPT a été estimée pour des consommateurs norvégiens (considérés comme à risque car fortement consommateurs de produits de la mer) à 0,083 µg/kg pc/j, soit 33% de la DJT. Chez les forts consommateurs de produits de la mer français, l'exposition moyenne à la somme des organoétains (mono, di et trisubstitués), via leur seule consommation de produits de la mer, n'excède pas 20% de la DJT (Guerin et al., 2007). Comme le notait l'EFSA en 2004, l'apport d'organoétains en population générale est inférieur à la VTR. Cependant, en l'absence de données sur la teneur en organoétains des aliments autres que les produits de la mer, il est difficile de conduire une évaluation de risque sur le régime total. Même si l'on considère que les produits de la mer sont effectivement la source alimentaire quasi exclusive d'organoétains, l'exposition à ces composés n'a pas été considérée comme préoccupante par l'AFSSA ni par l'EFSA dans leur évaluation du risque (EFSA, 2004b, AFSSA, 2006b).

2.1.2 Polluants organiques persistants

Les polluants organiques persistants (POP) sont des contaminants de l'environnement majoritairement d'origine anthropique. Ces composés caractérisés par une rémanence de plusieurs années regroupent entre autres les polychlorodibenzo-p-dioxines et polychlorodibenzo-furanes (PCDD/F), les polychlorobiphényles dioxin-like (PCB-DL) et non dioxin-like (PCB-NDL), et les retardateurs de flamme bromés (RFB).

Parmi les polychlorobiphényles (PCB), aussi appelés pyralènes, on compte 209 congénères parmi lesquels 12 PCB-DL dont le mode d'action est proche de celui des dioxines, ils seront donc traités avec les dioxines.

2.1.2.1 Dioxines, furanes et polychlorobiphényles dioxin-like

Les PCDD/F sont des composés dont les structures moléculaires et propriétés physico-chimiques sont proches. Ils comptent 210 congénères : 75 PCDD et 135 PCDF. Ils sont formés lors de processus thermiques tels que les feux de forêt ou l'incinération des déchets, et au cours de processus industriels (métallurgie, traitement des pâtes à papier, etc). La réduction des émissions atmosphériques et la mise aux normes européennes ont divisé par 10 les émissions de PCDD/F en France depuis 1990.

Du fait de leur stabilité et de leur forte lipophilie, PCDD/F et PCB-DL s'accumulent dans la chaîne alimentaire. Aussi, plus de 90% de l'exposition totale est d'origine alimentaire. Les produits de la mer contribuent fortement à cette exposition (seconds contributeurs derrière les produits laitiers, et devant les viandes), avec une plus forte contribution à l'exposition aux PCB-DL.

Parmi les poissons, les plus gras apparaissent comme étant les plus contaminés, en particulier l'anguille et les sardines. Plusieurs études ont également mis en évidence une moindre contamination des poissons sauvages par les dioxines et/ou les PCB, comparativement aux poissons d'aquaculture (Hites et al., 2004, Lo Turco et al., 2007, Cirillo et al., 2009), et l'alimentation de ces derniers semblerait être le facteur déterminant de cette contamination. L'étude de Hites et al. a également montré que les poissons de mer consommés en Europe étaient plus contaminés que les poissons d'Amérique du nord ou du sud. Le métabolisme des espèces ainsi que leur période de croissance et la durée de d'élevage sont des facteurs importants quant à la contamination des poissons d'aquaculture (Vizzini et al.).

La toxicité des dioxines repose sur leur capacité à se fixer au récepteur Ah (Aryl hydrocarbon), induisant des modifications de traduction de l'acide ribonucléique de certaines enzymes. Les PCB-DL ont un mode d'action proche et se fixent aussi sur le récepteur Ah. La 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (2,3,7,8-TCDD), ou dioxine de Seveso, a été la plus largement étudiée. Cette molécule sert de base au calcul des facteurs d'équivalence toxique (TEF) pour les autres congénères, permettant d'apprécier la toxicité de l'ensemble de ces molécules dans une même unité, les équivalents toxiques (TEQ). Une fois ingérés, les dioxines et PCB-DL franchissent la paroi gastro-intestinale et sont transportés dans l'organisme par les protéines sériques. Du fait de leur caractère lipophile, ils s'accumulent majoritairement dans le foie et le tissu adipeux. Chez l'homme, une partie est excrétée par voie fécale, mais l'élimination est lente. La demi-vie des dioxines et des PCB-DL, variable selon les congénères, est de l'ordre de 5,5 à 11 ans (en moyenne 7,6 ans). Ainsi la charge corporelle, reflet de l'exposition sur le long terme, atteint un niveau stationnaire au bout d'une dizaine d'années. De plus, toute mobilisation des graisses, notamment au cours de la lactation ou d'un régime amaigrissant, est accompagnée d'une redistribution des dioxines et PCB dans l'organisme, expliquant les teneurs parfois élevées dans le lait maternel.

Si les PCDD/F sont cancérogènes pour l'homme (classés en catégorie 1 par l'IARC en 1997), l'effet critique retenu par les comités scientifiques pour évaluer le risque est l'effet sur la fonction de reproduction, et plus particulièrement l'altération de la maturation sexuelle de jeunes rats mâles exposés à la 2,3,7,8-TCDD (WHO, 2002). Ces effets surviennent pour des charges corporelles 20 fois plus faibles que celles induisant les effets cancérogènes (AFSSA, 2006a). Le JECFA a fixé en 2001 une dose mensuelle tolérable provisoire (DMTP) pour l'ensemble des PCDD/F et PCB-DL à 70 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/mois (WHO, 2002).

L'exposition de la population française aux PCDD/F+PCB-DL (17 congénères de PCDD/F et 12 congénères de PCB-DL) a été évaluée par l'AFSSA en 2006 (AFSSA, 2006a). Chez les adultes, la moyenne est estimée à 53,7 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/mois, soit 1,8 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/j (médiane à 1,5 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/j), et chez les enfants, à 82,7 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/mois, soit 2,8 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/j (médiane à 2,4 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/j). Ces estimations étaient du même ordre de

grandeur que celles faites par d'autres pays européens (Espagne, Finlande, Pays-Bas, Royaume-Uni) et restaient proches, voire dépassaient pour les enfants, la DMTP du JECFA (28% de dépassement). Plus récemment l'exposition française a été réévaluée par la seconde étude de l'alimentation totale, et ne s'élève plus qu'à 0,47 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/j chez les adultes (P95 = 1,00 pg TEQ OMS₉₈/kg pc/jour) et 0,76 pg TEQ-OMS₉₈/kg pc/j chez les enfants (P95 = 1,69 pg TEQ OMS₉₈/kg pc/jour) (ANSES, en cours). Aussi, moins de 1% des adultes comme des enfants dépassent la VTR. De façon générale, pour les adultes comme les enfants, les produits de la pêche et les produits laitiers représentent plus de 80% de l'exposition.

Les niveaux d'exposition estimés ont donc diminué depuis les années 2000 d'un facteur 4 environ, ce qui peut être lié à des méthodologies de calcul différentes, mais aussi à une réduction des concentrations dans les matrices environnementales et alimentaires suite à la mise en place de la réglementation en 2001 pour les PCDD/F (Règlement (CE) No 2375/2001, 2001) et en 2006 pour les PCB-DL (Règlement (CE) No 199/2006, 2006).

2.1.2.2 Polychlorobiphényles

Les PCB sont des composés aromatiques chlorés issus de la synthèse chimique ayant été utilisés depuis les années 30 pour leurs propriétés isolantes. Leur utilisation est interdite en France depuis 1987. Lipophiles et stables, ils s'accumulent dans la chaîne alimentaire et se concentrent dans les produits animaux, en particulier les poissons gras. Aussi l'alimentation représente-t-elle 90% de l'exposition totale aux PCB, majoritairement via les produits animaux, dont les poissons. De la même façon que concernant les contaminations en dioxines et PCB-DL, les poissons d'aquaculture semblent présenter des concentrations en PCB totaux supérieures à celles des poissons sauvages (Hites et al., 2004, Cirillo et al., 2009).

Les PCB-NDL sont hépatotoxiques chez le rat, et ont également des effets endocriniens (atteintes de la thyroïde). Néanmoins des études chez le singe ont montré des effets sur le développement cérébral à des doses moindres que celles induisant les effets hépatotoxiques et thyroïdiens. Aussi, les effets critiques retenus pour les PCB-NDL sont les effets sur le développement moteur et mental de l'enfant exposé *in utero* (hyperactivité, moindres capacités sensorimotrices, etc.), et chez l'adulte les perturbations endocriniennes (hyperthyroïdie, concentrations hormonales réduites, etc.) (AFSSA, 2007b, AFSSA, 2010c).

Il a de plus été suggéré que certains effets neurotoxiques des PCB seraient amplifiés par le méthylmercure, même si toutes les études ne concordent pas (Rice, 2008, Grandjean et al., 2001) vraisemblablement du fait d'une prise en compte différente des variables de confusion (Budtz-Jorgensen et al., 2007, Budtz-Jorgensen et al., 2010). Par ailleurs, chez des rongeurs, des effets sur le système cardiovasculaire ont été observés suite à une exposition à long terme aux PCB-DL (Hennig et al., 2002). Les PCB seraient impliqués dans le processus athérosclérotique par induction de stress oxydant et d'un processus inflammatoire, élévation du cholestérol et de la triglycéridémie (Goncharov et al., 2008, Helyar et al., 2009).

Parmi les PCB, 6 à 7 congénères sont appelés PCB indicateurs (PCBi) car ils sont retrouvés en grande quantité dans l'environnement et les aliments (congénères 28, 52, 101 (118), 138, 153, 180). Le PCB 118 contribue très peu à la contamination totale des aliments comme à l'exposition. En 2005, l'EFSA a retenu ces mêmes six congénères (PCB-118 exclu) (EFSA, 2005). On estime que leur concentration représente 50% de la concentration en PCB totaux (AFSSA, 2002b).

En 2002, l'OMS a proposé une dose journalière tolérable (DJT) de 20 ng/kg pc pour l'ensemble des PCB (WHO, 2003), dose retenue l'année précédente par l'Institut Néerlandais pour la santé publique et l'environnement (RIVM, 2001) et validée par l'AFSSA en 2007 (AFSSA, 2007b). S'appuyant sur l'hypothèse selon laquelle les 6 PCBi représentent 50% de la concentration en PCB totaux, une DJT de 10 ng/kg pc a été proposée pour les PCBi (RIVM, 2001). Cette valeur ayant été fixée pour la population la plus sensible, c'est-à-dire pour le fœtus au travers de l'exposition de la femme enceinte, il a récemment été suggéré que celle-ci était trop protectrice pour la population générale.

En France, l'exposition moyenne aux 6 PCBi (PCB-DL 118 exclu) de la population générale adulte a été estimée en 2007 à 7,7 ng/kg pc/j (AFSSA, 2007b) et plus récemment à 1,88 ng/kg pc/j (ANSES, en cours). Les contributeurs majoritaires à cette exposition sont les poissons (32-36% en 2007 contre 38,7% dans l'étude de l'alimentation totale), les viandes et les produits laitiers. Plus particulièrement pour les femmes en âge de procréer, la population la plus à risque au regard de la sensibilité du fœtus, l'exposition moyenne s'élevait à 7,6 ng/kg pc/j en 2007 et n'est plus que de 1,87 ng/kg pc/j en 2010 (ANSES, en cours). Les valeurs moyennes de 2007 se situaient dans la fourchette des autres estimations européennes d'exposition, et en-dessous de la DJT de 10 ng/kg pc/j. Au 95^e percentile, l'exposition des adultes était de 16 ng/kg pc/j en 2007, dépassant donc la DJT, mais en 2010 l'exposition au 95^e percentile n'est plus que de 5,40 ng/kg pc/j. De la même façon que pour les PCDD/F et PCB-DL, les niveaux d'exposition estimés ont diminué d'un facteur 4 environ depuis la mise en place de la réglementation pour les PCB-DL (Règlement (CE) No 199/2006, 2006).

En évaluation du risque, dès lors que les approches dites théoriques (s'appuyant sur une estimation de l'exposition alimentaire) montrent un risque non négligeable pour la santé publique (dépassements des valeurs toxicologiques de référence), le recours aux données réelles d'exposition permet de vérifier l'existence d'un risque potentiel. Les données d'imprégnation sont alors utilisées, c'est-à-dire les biomarqueurs d'exposition. Concernant les PCB, les teneurs plasmatiques constituent un bon marqueur de l'exposition totale, alimentaire, mais aussi environnementale et professionnelle. Elles reflètent l'exposition chronique étant donné que les PCB s'accumulent tout au long de la vie dans le tissu adipeux (sauf dans les cas de perte de poids importante).

Ainsi, les données d'imprégnation françaises les plus récentes sont celles d'une étude sur des populations résidant à proximité d'usines d'incinération d'ordures ménagères (INVS and AFSSA, 2009). Les résultats montrent que 90% des femmes en âge de procréer de l'étude et 98% du reste de la population présentent des concentrations plasmatiques en PCB inférieures aux seuils d'imprégnation critiques proposés par l'AFSSA : 700 ng PCB/g lipides plasmatiques pour les femmes enceintes ou en âge de procréer, les femmes allaitantes et les enfants de moins de 3 ans, et 1800 ng

PCB/g lipides plasmatiques pour le reste de la population (AFSSA, 2010c). Par ailleurs, il apparaît également que les concentrations plasmatiques de PCB sont en baisse par rapport aux concentrations mesurées dans les années 80 (AFSSA, 2010c), qui reflétaient davantage le pic d'exposition précédant l'interdiction des PCB. Cette diminution des concentrations biologiques traduit la diminution des concentrations dans l'environnement et les matrices alimentaires, et ainsi l'efficacité des mesures d'interdiction de l'utilisation des PCB.

Chez les adultes comme chez les enfants, les poissons apparaissent comme les contributeurs majoritaires à l'exposition aux PCB totaux (37,2 et 27,6%, respectivement).

2.1.2.3 Retardateurs de flamme bromés

Les retardateurs de flamme bromés (RFB) sont des composés chimiques de synthèse stables, utilisés pour leurs propriétés ignifuges (AFSSA, 2006d). Ils sont incorporés dans les matières plastiques des appareils électriques, des circuits électroniques ou encore dans des matériaux de capitonnage ou certains textiles. Les RFB regroupent les polybromodiphényléthers (PBDE), les polybromobiphényles, l'hexabromocyclododécane et le tétrabromobisphenol A. Du fait de leur large utilisation (au moins jusqu'en 2004 pour certains composés en Europe), leur stabilité et leur lipophilie, on les retrouve dans l'environnement (notamment dans les poussières intérieures) et *a fortiori* dans la chaîne alimentaire.

Dans le cadre de ce travail, seules des données sur les PBDE seront traitées.

Les PBDE regroupent 209 congénères. Outre l'exposition professionnelle, l'alimentation reste la principale source d'exposition aux PBDE en Europe, avant l'inhalation et l'absorption dermale. Les données sur le métabolisme et la toxicité des PBDE sont parcellaires et incomplètes ; les études menées sont souvent anciennes et de mauvaise qualité (non respect des bonnes pratiques de laboratoire), et portent sur des mélanges de plusieurs congénères. Une exposition aiguë à certains mélanges de PBDE entraîne chez le rat un ralentissement de la croissance, mais aussi diarrhée, piloérection, tremblements, rougeurs pré-oculaires et péri-nasales, troubles hépatiques, etc (WHO, 2006b, AFSSA, 2006d). Les quelques études de toxicité subchronique ou chronique (2 semaines et plus) ont montré des effets toxiques principalement sur le foie (hypertrophie, vacuolisation des hépatocytes, nécrose, pigmentation des cellules de Küpffer, adéno-carcinomes), la thyroïde (hypertrophie des cellules folliculaires, adéno-carcinomes) et le rein. Selon l'animal et le mélange de PBDE considéré, les doses sans effet s'échelonnent de 1 à <3200 mg/kg pc/j, la plus faible dose entraînant un effet néfaste étant de 8 mg/kg pc/j. Les effets hépatiques semblent apparaître pour les plus faibles doses, et la toxicité tendrait à décroître avec l'augmentation du nombre de bromes.

Des effets sur la fonction endocrine ont également été rapportés : altérations hormonales ayant des impacts sur les fonctions de reproduction, la maturation sexuelle et le développement de l'embryon et du nouveau-né (AFSSA, 2006d). Certaines études ont également montré un impact des PBDE sur les fonctions immunitaires et le système nerveux.

Cependant, aucune VTR n'a pu être fixée à l'heure actuelle. Le mode d'action des PBDE étant proche de celui des PCB-DL (affinité pour le récepteur Ah), il est parfois suggéré de traiter le risque lié aux PBDE et PCB ensemble.

Les différentes estimations européennes montrent des expositions chez l'homme de l'ordre de 13 à 213 ng/j, selon les congénères étudiés et les estimations faites pour les données censurées (WHO, 2006b), et 63 à 142 ng/j pour la France (adultes, pour un poids moyen de 65 kg) (AFSSA, 2006d). Les produits de la mer apparaissent comme étant les produits les plus contaminés, mais aussi comme étant les vecteurs majoritaires (21-87%) devant les autres produits animaux.

2.2 Bénéfices liés à la consommation de produits de la mer

Les produits de la mer, et en particulier les poissons, sont une source de protéines et de lipides. Les principaux acides gras apportés sont les acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la famille des omégas 3 (AGPI-LC n-3). Les produits de la mer peuvent également être des sources significatives d'oligoéléments et de vitamines.

2.2.1 Protéines

Macromolécules constituées de chaînes d'acides aminés, les protéines jouent un rôle structurel et fonctionnel indispensable dans l'organisme : communication cellulaire, transport, signalisation, catalyse, etc.

Le poisson, au même titre que la viande, est une source importante de protéines animales qui sont généralement plus riches en acides aminés indispensables que les protéines végétales, et de meilleure digestibilité. Pour les non-consommateurs de viande, le poisson constitue donc un vecteur de protéines, avec des teneurs moyennes pouvant aller de 15 à plus de 25 g de protéines/100 g (AFSSA-CIQUAL, 2008). La FAO recommande ainsi de communiquer auprès des populations sur le fait que le poisson est une source importante de protéines (FAO/WHO, 2010).

Certaines études ont montré un effet hypocholestérolémiant des protéines de poisson (Debry, 2004, Zhang and Beynen, 1993, Wergedahl et al., 2004). Un effet hypotriglycéridémiant des protéines de poisson a également été suggéré (Demonty et al., 2003). Ces effets doivent néanmoins être confirmés par d'autres études, et les mécanismes identifiés.

Les apports nutritionnels conseillés (ANC) pour les protéines ont été réévalués par l'AFSSA en 2007 sur la base des données disponibles sur les besoins de la population obtenues par la méthode du bilan azoté (AFSSA, 2007a). Chez l'adulte en bonne santé, l'ANC (valeur minimale) a été établi à 0,83 g/kg pc/j. Pour les personnes âgées, il a été fixé à 1 g/kg pc/j, soit légèrement supérieur à celui des adultes de moins de 60 ans. Chez les femmes enceintes, selon le trimestre de grossesse, et chez les femmes allaitant, l'ANC a été établi à 0,82-1,1 g/kg pc/j. Les données de la seconde étude individuelle de consommation alimentaire française (INCA2) montrent que, dans la population française générale, l'apport moyen de protéines est de $100 \pm 25,9$ g/j chez les hommes adultes (soit 1,7 g/kg pc/j pour un adulte de 60 kg) et $74,2 \pm 17,3$ g/j chez les femmes (soit 1,2 g/kg pc/j pour un adulte de 60 kg) (AFSSA, 2009k). Seuls 6,9% de cet apport étant attribuables à la consommation de produits de la pêche. Les prévalences d'inadéquation d'apports dans la population étant faibles (0 à 7%) (AFSSA, 2007a), l'apport de protéines en population générale ne constitue pas un problème de santé publique.

2.2.2 Acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la famille des omégas 3

Les lipides apportés par l'alimentation ont un rôle énergétique (1 g de lipides = 9 kcal), sont le principal constituant de la membrane cellulaire, et interviennent dans les communications intra et intercellulaires.

Les denrées d'origine animale constituent la principale source (hors supplémentation) d'AGPI-LC n-3, en particulier d'acide éicosapentaénoïque (EPA), d'acide docosapentaénoïque (DPA), et d'acide docosahexaénoïque (DHA). En effet, si le précurseur des omégas 3, l'acide alpha-linolénique est apporté principalement par les huiles végétales, la conversion de ce précurseur en dérivés à longues chaînes est très faible chez l'homme (moins de 5%). La viande, les œufs et le poisson contribuent donc fortement à l'apport d'acides gras essentiels EPA, DPA et DHA. Plus particulièrement les produits de la mer contribuent à l'apport en EPA et de DHA à hauteur de 50% et 70% respectivement dans la population australienne (Howe et al., 2006), 87% et 80% dans une population féminine belge (Sioen et al., 2006), et 72% et 65% dans la population de l'étude SU.VI.MAX (Astorg et al., 2004).

Cependant il convient de souligner que la composition lipidique du poisson, de façon générale, est dépendante de nombreux facteurs incluant la taille et la période de reproduction, mais aussi la saison et l'alimentation du poisson, elle-même dépendante de la région d'origine pour les poissons sauvages (Özyurt et al., 2005, Murase and Saito, 1996). Par ailleurs les poissons sauvages présenteraient des concentrations en AGPI-LC n-3 significativement inférieures à celles des poissons d'élevage, sans doute du fait d'une alimentation contrôlée. Enfin le mode de préparation est également important ; la cuisson par exemple, en particulier la friture plate, réduirait de façon significative les concentrations en AGPI n-3 et le ratio n-3/n-6 (Bhouri et al., 2010).

2.2.2.1 Bénéfices du poisson et des AGPI-LC n-3

De nombreuses études ont montré que la consommation de poisson ou de poissons gras pouvait être associée à des effets protecteurs sur les maladies cardiovasculaires (Mozaffarian, 2008), notamment les maladies coronaires (Daviglus et al., 1997, Hu et al., 2002, Kris-Etherton et al., 2002), les accidents vasculaires cérébraux (He et al., 2004), certains cancers (Hirose et al., 2003, Norat et al., 2005, Hughes et al., 2009), certaines maladies neurodégénératives (Morris et al., 2003, Huang et al., 2005), et la dépression nerveuse (Astorg et al., 2008b, Timonen et al., 2004).

De façon générale, les apports d'EPA et de DHA seraient les éléments déterminants des mécanismes impliqués dans ces effets protecteurs (Annexe 1). Ils contribueraient à réduire l'arythmie et la thrombose (Kinsella et al., 1990), le taux de triglycérides plasmatiques (Harris, 1997) et la coagulation du sang (Mori et al., 1997).

Outre le bénéfice cardiovasculaire des AGPI-LC n-3, l'effet du DHA sur le développement cérébral de l'enfant est particulièrement documenté. Des études cliniques ont montré une association entre le développement visuel et cognitif et le statut en DHA de la femme enceinte ou du jeune enfant

(Malcolm et al., 2003) ou la concentration en DHA du lait maternel (Lauritzen et al., 2004), même si elles ne permettent pas de conclure quant au bénéfice d'une supplémentation systématique. L'incorporation du DHA dans les membranes des cellules cérébrales et rétinienne commence au cours de la vie fœtale, s'intensifie durant le troisième trimestre de la grossesse et se poursuit au cours des deux premières semaines suivant la naissance (Cetin and Koletzko, 2008, Koletzko et al., 2008). Aussi, en situation expérimentale, une supplémentation de l'alimentation maternelle en DHA est traduite par une augmentation des concentrations tissulaires chez le jeune enfant (Krauss-Etschmann et al., 2007, Innis and Friesen, 2008). Plus généralement, des études épidémiologiques ont montré une association positive entre la consommation de poisson chez la femme enceinte et le développement cognitif (mesure de différents scores) de l'enfant (Hibbeln et al., 2007, Oken et al., 2005).

D'autres études d'observation ont rapporté une association négative souvent dose-dépendante entre la consommation de poissons, l'apport d'EPA et/ou de DHA, et les troubles de l'humeur, qu'il s'agisse de symptômes dépressifs (Hibbeln, 1998, Timonen et al., 2004) ou de troubles du spectre bipolaire (Noaghiul and Hibbeln, 2003), mais pas avec la schizophrénie. Cependant, les mécanismes par lesquels l'EPA et le DHA agiraient sur les troubles de l'humeur sont peu connus. Plusieurs études d'intervention ont montré que l'EPA ou des mélanges EPA+DHA, apportés à des doses relativement élevées (jusqu'à 9 g d'EPA+DHA), pouvaient avoir un rôle dans la prévention de certains de ces troubles (Stoll et al., 1999, Jazayeri et al., 2008, Mischoulon et al., 2009), même si toutes ne convergent pas (Carney et al., 2009). Cependant les études ne portent pas toutes sur les mêmes troubles (trouble bipolaire, dépression caractérisée, etc.), les patients, en nombre variable, peuvent être traités ou non par antidépresseurs, l'EPA est administré seul ou combiné avec du DHA, et à des doses différentes. Un faible statut en AGPI-LC n-3 pourrait induire ces troubles de l'humeur. Il a en effet été montré chez l'animal qu'un déficit d'apport en AGPI n-3 perturbait le fonctionnement synaptique (Zimmer et al., 2000, Kudas et al., 2004) (Annexe 1).

Un effet bénéfique des AGPI-LC n-3 sur le développement et le fonctionnement du système nerveux central a aussi été montré chez l'homme (Antalis et al., 2006), ainsi que sur les pathologies neurodégénératives (Mazza et al., 2007) ou encore ophtalmiques (Desmettre and Rouland, 2005), et la dépression (Hibbeln and Salem, 1995). Là encore, les mécanismes d'action de l'EPA et du DHA sur les fonctions cérébrales sont peu connus.

Enfin, il a été suggéré que l'association négative observée dans certaines études entre la consommation de poisson et l'apparition de certains cancers était liée aux apports en AGPI n-3, notamment les cancers du sein, du colon, et de la prostate (Annexe 1). Ainsi par exemple, dans une étude cas-témoins, une réduction significative du risque d'apparition du cancer du sein de l'ordre de 70% était observée dans le plus fort tertile de concentrations en DHA dans le tissu adipeux mammaire (Maillard et al., 2002) ou érythrocyte. Un ratio oméga 3/oméga 6 élevé pourrait également être associé à une réduction significative du risque de cancer du sein (Maillard et al., 2002, Goodstine et al., 2003). Cet effet bénéfique s'expliquerait aussi par une action anti-angiogénique de l'EPA et du DHA (Spencer et al., 2009). Ils empêcheraient ainsi l'angiogenèse (fabrication des vaisseaux sanguins irriguant les tumeurs cancéreuses).

2.2.2.2 Biomarqueurs d'apports et d'effets

Les acides gras de la membrane des hématies constituent de bons biomarqueurs des apports d'acides gras sur le long terme (Katan et al., 1997, Weill et al., 2002, Arab, 2003b), bien que de nombreuses études aient analysé la teneur en AGPI n-3 du plasma (Bonaa et al., 1992, Bjerve et al., 1993, Svensson et al., 1993, Andersen et al., 1996, Anttolainen et al., 1996, Hjartaker et al., 1997, Amiano et al., 2001, Wakai et al., 2005, Welch et al., 2006, Philibert et al., 2006, Astorg et al., 2008a). Avec une demi-vie de 60 jours, l'érythrocyte représente un bon marqueur à long terme car il reflètera les fluctuations des apports alimentaires sur plusieurs semaines, alors que les lipides du plasma ne reflèteront que les apports des derniers repas.

Le taux d'EPA+DHA érythrocytaire – aussi appelé Omega-3 Index – a également été proposé par Harris comme biomarqueur de risque cardiovasculaire, en particulier de mort subite par infarctus (Harris and Von Schacky, 2004, Harris, 2008). A partir de plusieurs études en prévention primaire¹ et secondaire de maladies coronaires, Harris a montré que le taux d'EPA+DHA érythrocytaire était négativement associé au risque de décès par infarctus. Un taux de 8% et plus est associé à une forte protection cardiovasculaire, alors qu'un taux inférieur à 4% est associé à une plus faible protection (Harris and Von Schacky, 2004, Harris, 2008).

En prévention primaire, le taux d'EPA+DHA érythrocytaire est associé à une réduction du risque d'arrêt cardiaque (Siscovick et al., 1995) et un taux peu élevé serait associé à un risque accru de syndrome coronaire (Block et al., 2008). Le taux de DHA érythrocytaire est inversement corrélé à la fréquence cardiaque chez les hommes (Dallongeville et al., 2003).

Par ailleurs le taux d'EPA+DHA érythrocytaire est également un indicateur de la qualité de l'alimentation. Aussi un taux d'EPA d'au moins 0,65% et un taux de DHA supérieur à 4% (combiné à des taux plasmatiques d' α -carotène et β -carotène d'au moins 1 $\mu\text{mol/L}$ et une concentration en vitamine E d'au moins 30 $\mu\text{mol/L}$) seraient associés à un régime qualifié de sain (Gerber et al., 2000).

La consommation de poissons gras (Harris et al., 2007, Arterburn et al., 2008), d'aliments enrichis en AGPI-LC n-3 (Murphy et al., 2007) ou de compléments alimentaires à base d'huile de poisson, d'algues ou d'huile de lin (Harris et al., 2007, Arterburn et al., 2008, Barcelo-Coblijn et al., 2008) augmente le taux d'oméga 3 érythrocytaire. Ainsi, une supplémentation à base d'huile de poisson pendant 8 semaines apportant 2,1 g/j d'EPA+DHA, augmente l'EPA érythrocytaire (+300%) et le DHA dans une moindre mesure (+42%), le taux d'EPA+DHA atteignant en moyenne 8% (Cao et al., 2006).

2.2.2.3 Apports recommandés en AGPI-LC n-3

De nombreuses agences nationales ont proposé des recommandations d'apports en EPA et DHA principalement fondées sur un besoin nutritionnel minimum et sur les effets de protection cardiovasculaire (ISSFAL, 2007). Ces recommandations vont de 200 à 2000 mg d'EPA+DHA par jour

¹ Ensemble des mesures destinées à réduire l'incidence d'une maladie au sein d'une population, donc à réduire le risque d'apparition de nouveaux cas.

(Tableau 1). En 2004, l'International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL) a émis une recommandation de 500 mg d'EPA+DHA par jour pour la santé cardiovasculaire, qui concorde avec la plupart des recommandations des diverses agences.

En France, les recommandations ont été révisées en 2010. Pour les adultes et les enfants de plus de 10 ans, un apport quotidien de 500 mg EPA+DHA est à présent recommandé, incluant 250 mg de DHA, sur la base d'un apport calorique total de 2000 kcal (AFSSA, 2010a). Pour les enfants de 3 à 10 ans, l'apport recommandé est fixé à 250 mg EPA+DHA/j, dont 125 mg de DHA.

Tableau 1. Recommandations d'apports en oméga 3 (ω 3)

Organisme / Pays	Date	Recommandation
National Nutrition Council of Norway / Norvège	1989	0,5% EN AGPI-LC ω 3 (1-2 g/j)
Scientific Review Committee of Canada / Canada	1990	Au moins 0,5% EN sous forme d' ω 3
FAO/WHO Expert Committee on Fats and Oils in Human Nutrition	1994	Consider pre-formed DHA in pregnancy
American Heart Association / Etats-Unis	2002	Si maladie cardiovasculaire (prévention secondaire) : 1000 mg ω 3/j
Scientific Advisory Committee on Nutrition / Royaume Uni	2004	Au moins 450 mg EPA+DHA/j
ISSFAL	2004	500 mg AGPI-LC ω 3/j
Australia and New Zealand Government Recommendations / Australie et Nouvelle-Zélande	2005	AGPI-LC ω 3 : 610 mg (homme) et 410 mg (femme)
Health Council of the Netherlands / Pays-Bas	2006	450 mg ω 3/j
AFSSA / France	2010	3-10 ans : 250 mg EPA+DHA/j dont 125 mg DHA ; Adultes et enfants > 10 ans : 500 mg EPA+DHA/j dont 250 mg DHA

EN : apport énergétique total ; MCV : maladie cardiovasculaire. Source : ISSFAL, <http://www.issfal.org.uk>

L'impact négatif que pourrait avoir un apport excessif d'oméga 3 par la prise de compléments alimentaires a également été étudié, en particulier une perturbation de la réponse immunitaire, pouvant induire une hémorragie ou une coagulation plus lente (Harris, 2007). Néanmoins, plusieurs agences et comités (*Institute of Medicine*, EFSA, *UK Scientific Advisory Committee on Nutrition*) ayant par ailleurs recommandé un apport minimum, ont jugé que les éléments scientifiques étaient insuffisants pour conclure à une association significative entre consommation de poissons ou d'huiles de poisson et accident hémorragique (FDA/CFSAN, 2009).

2.2.2.4 Apports en AGPI-LC n-3 en France

L'apport d'EPA+DHA a été estimé en population générale chez les seuls consommateurs de produits de la mer en fonction du nombre total de poissons consommés et du nombre de poissons gras (>2 g lipides/100 g) (AFSSA, 2009a). Il est en moyenne de 170-260 mg/j chez les 3-10 ans, et 240-610 mg/j chez les adultes et enfants de plus de 10 ans. A titre de comparaison, dans la population de l'étude SU.VI.MAX, l'apport moyen d'EPA+DHA a été estimé à 423 mg chez les hommes et 344 mg chez les femmes (Astorg et al., 2004).

Ainsi, de façon générale, les recommandations nutritionnelles ne sont pas atteintes chez les enfants comme chez les adultes, exceptés pour les forts percentiles (plus forts consommateurs de poisson et de poissons gras en particulier).

2.2.3 Vitamines

Les vitamines interviennent en tant que coenzyme dans de nombreuses fonctions de l'organisme : croissance, métabolisme cellulaire, homéostasie, fonctions immunitaires, etc. Les produits de la mer sont sources de certaines vitamines liposolubles (D, E, A) et hydrosolubles (B₆, B₁₂). Parmi celles-ci, seule la vitamine D peut être synthétisée par l'organisme, les autres sont exclusivement apportées par l'alimentation. Les produits de la mer peuvent donc être des aliments intéressants, en particulier dans certains sous-groupes de population pour lesquels les apports vitaminiques sont parfois insuffisants.

2.2.3.1 Vitamine D

Les fonctions principales de la vitamine D sont sa participation à la minéralisation des tissus minéralisés avant et après la croissance, et au maintien de l'homéostasie calcique (Garabedian, 2001). Deux tiers de la vitamine D utilisée par l'organisme proviennent de sa synthèse endogène par l'épiderme exposé au rayonnement solaire ou à une source d'ultraviolets de façon générale, et ce pour des populations vivant en France ou plus généralement sous les mêmes latitudes. Le reste est apporté par l'alimentation. Le poisson est l'aliment présentant les plus fortes concentrations (jusque 22 µg/100 g pour le hareng) (AFSSA-CIQUAL, 2008), généralement proportionnelles à la teneur de matière grasse du muscle car la vitamine D est liposoluble, faisant du poisson un vecteur particulièrement intéressant.

Cette double source, endogène et alimentaire, rend difficile la détermination d'un ANC. Néanmoins la valeur de 5 µg/j (ou 200 UI/j) semble faire consensus pour l'adulte en bonne santé, en s'appuyant sur l'hypothèse selon laquelle la synthèse endogène couvre 50 à 70% des besoins journaliers. En population générale les apports sont peu satisfaisants. En moyenne ils sont estimés à 2,7 µg/j chez les hommes et 2,4 µg/j chez les femmes (AFSSA, 2009k). Plus spécifiquement, chez les personnes âgées, l'apport recommandé s'élève à 10 µg/j du fait d'un besoin accru et d'une moindre exposition au

soleil. L'apport est jugé beaucoup trop bas dans la population âgée (Carrière et al., 2007), en particulier chez les sujets en institution, et ce malgré un apport plus élevé chez les 55-79 ans (AFSSA, 2009k). Aussi le poisson, plus consommé par les personnes âgées, constitue-t-il un vecteur de vitamine D particulièrement intéressant (Bourre and Paquotte, 2008).

L'EFSA a proposé chez l'adulte une limite de sécurité de 50 µg/jour pour protéger contre le risque d'hypocalciurie et d'hypercalcémie, qui sont les effets critiques rapportés en cas d'hypervitaminose (EFSA, 2006b). Une dose de 25 µg/jour a été dérivée pour les enfants de 0 à 10 ans, et la limite de 50 µg/jour a été considérée comme adéquate pour les 11-17 ans. Néanmoins, en fonction de l'exposition au soleil et de la synthèse endogène de vitamine D, le risque d'effets néfastes suite à une hypervitaminose peut être accru chez certains sujets.

2.2.3.2 Vitamine E

La vitamine E est un terme générique regroupant l'ensemble des tocophérols (α, β, γ, et δ) et tocotrienols (α, β, γ, et δ). Néanmoins, l'α-tocophérol est de loin la forme la plus abondante dans l'organisme et présente l'activité la plus élevée. La vitamine E est liposoluble, on la trouve en grande quantité dans les graines oléagineuses (jusque 624 mg α-TE (*alpha-tocopherol equivalent*) pour les noix de cajou), les margarines (jusque 46 mg TE) et les huiles végétales (jusque 62 mg TE) (AFSSA-CIQUAL, 2008). Par rapport au reste de l'alimentation, les poissons les plus gras, comme l'anguille, le saumon ou encore la sardine, apportent des quantités importantes de vitamine E (jusque 5,1 mg TE). Dans les poissons d'élevage, la teneur en vitamine E est généralement supérieure à celle des poissons sauvages, car elle est ajoutée dans leur alimentation (AFSSA, en cours).

La vitamine E est absorbée lors de la digestion des lipides et distribuée aux tissus. Elle est stockée dans les tissus adipeux mais se concentre aussi dans les phospholipides des mitochondries, du réticulum endoplasmique et des membranes cellulaires en général. Elle protège ainsi les acides gras polyinsaturés dont EPA et DHA particulièrement sensibles à l'oxydation du fait de leurs doubles liaisons, notamment au niveau des membranes biologiques et des lipoprotéines. Elle limite la propagation des radicaux libres peroxydes d'acides gras polyinsaturés de la membrane en les oxydant selon l'équation suivante : $\text{PUFA-OO}^\bullet + \text{TocOH} \rightarrow \text{PUFA-OOH} + \text{TocO}^\bullet$, où TocOH est la vitamine E (Murray et al., 2002, Halliwell and Cross, 1994). Il a ainsi été suggéré que la vitamine E était impliquée dans les mécanismes de défense contre de nombreuses pathologies liées au stress oxydant, en prévention primaire : cancers colorectal, du poumon et de l'œsophage notamment, mais aussi maladies cardiovasculaires (EFSA, 2006b). L'ANC a été fixé à 12 mg/j pour les adultes et les adolescents à partir de 13 ans (soit un besoin nutritionnel moyen, BNM, de 9,24 mg/j), et des valeurs pouvant aller jusqu'à 20-50 mg/j pour les personnes âgées de plus de 75 ans (Azaïs-Braesco et al., 2001). Une alimentation équilibrée est susceptible d'apporter 15 à 18 mg de vitamine E par jour. Or, dans la population française, différentes études montrent que l'apport effectif est inférieur à ces valeurs. L'étude INCA2 montre en population générale que les apports moyens sont de 11,9 et 11,1 mg/j chez les hommes et femmes, respectivement (AFSSA, 2009k). L'étude SU.VI.MAX a par ailleurs

montré des apports médians de 9,2 mg/j chez les femmes et de 12,0 mg/j chez les hommes (Galan et al., 2003).

Une limite de sécurité a été proposée par l'EFSA, à 300 mg/jour, s'appuyant sur une dose sans effet sur la coagulation sanguine de 540 mg/j (EFSA, 2006b).

2.2.3.3 Vitamine A

De façon générale on s'accorde à regrouper sous le terme « vitamine A » l'ensemble des composés ayant une activité biologique proche de celle du rétinol : le rétinol et ses esters (constituant la vitamine A préformée), et les caroténoïdes pro-vitaminiques. En théorie, une molécule de β -carotène peut se diviser et former deux molécules de rétinol. Néanmoins le facteur de conversion est relativement faible, on estime que 6 μ g de β -carotène sont nécessaires à la formation de 1 μ g de rétinol. Cette conversion est régulée par le statut en vitamine A de l'organisme, prévenant une hypervitaminose A.

La vitamine A est impliquée dans de nombreuses fonctions, principalement la vision et la régulation de l'expression du génome, mais aussi la croissance, le renouvellement tissulaire et la fonction immunitaire. Le rétinol et ses esters sont exclusivement apportés par les produits animaux, les aliments les plus riches étant le foie (5400 à 23500 μ g/100g de poids frais) (AFSSA-CIQUAL, 2008), mais aussi certains poissons comme l'anguille ou le thon (jusque 1000 μ g/100 g), et le beurre (700 μ g/100 g). Les caroténoïdes pro-vitaminiques (provitamine A ou β -carotène) sont quant à eux apportés en quantités importantes par les légumes.

L'absorption de la vitamine A se fait au niveau de l'intestin grêle. Elle dépend en outre du régime alimentaire et notamment de l'apport en lipides et en fibres de l'alimentation. L'ANC pour la vitamine A est de 600 μ g RE (*retinol equivalent*, 1 RE = 1 μ g rétinol) par jour chez les femmes de plus de 15 ans (hors femmes enceintes et allaitantes) et de 800 μ g RE/j chez les hommes de plus de 16 ans (Azaïs-Braesco and Grolier, 2001).

Sur la base d'effets tératogènes de la vitamine A, l'EFSA a fixé pour le rétinol et ses esters des limites de sécurité de 3000 μ g RE/jour pour les femmes en âge de procréer – applicable pour les hommes adultes – et de 800 à 2600 μ g RE/jour pour les enfants de 1 à 17 ans (EFSA, 2006b). Par ailleurs, un niveau d'apport maximal de 1500 μ g RE/jour a été recommandé en 2008 pour les personnes présentant un risque plus élevé d'ostéoporose et de fracture des os, en particulier les femmes ménopausées (EFSA, 2008).

Si les études réalisées en population générale française adulte montrent des apports globalement satisfaisants, elles montrent néanmoins des risques d'excès d'apports chez certains individus, notamment les jeunes hommes (Touvier et al., 2006) et les femmes ménopausées (AFSSA, 2010b).

2.2.3.4 Vitamine B₆

La vitamine B₆ existe sous plusieurs formes, mais le pyridoxal 5'-phosphate est la principale forme dans les organismes animaux. C'est le coenzyme de nombreuses enzymes du métabolisme des

acides aminés. Elle participe entre autres à la formation de neurotransmetteurs. Parmi les produits animaux, les poissons constituent une source intéressante de vitamine B₆ (AFSSA-CIQUAL, 2008).

Les ANC (1,5 à 2,2 mg/j) ont été fixés en France à partir des résultats de l'étude SU.VI.MAX notamment. Le BNM, calculé à partir de ces ANC, est couvert en moyenne par la population adulte générale : 1,9 mg/j pour les hommes pour un BNM de 1,5-1,8 mg/j, et 1,6 mg/j pour les femmes adultes pour un BNM de 1,2-1,8 mg/j (AFSSA, 2009k). Les prévalences d'insuffisance d'apports atteignent 30,9% [IC_{95%} : 22,3 ; 39,5] chez les hommes de plus de 65 ans et 29,6% [IC_{95%} : 19,9 ; 39,2] chez les jeunes femmes (15-19 ans) (Touvier et al., 2006). Néanmoins ces groupes de population ne sont pas considérées comme des groupes particulièrement à risque élevé d'insuffisance d'apport (la borne supérieure de l'intervalle de confiance autour de la prévalence étant inférieure à 50%).

Sur la base des effets neurotoxiques de la pyridoxine (une des formes de la vitamine B₆), l'EFSA a proposé une limite de sécurité de 25 mg/j pour les adultes et de 5 à 20 mg/j pour les enfants selon leur âge. Cette limite correspond à un apport observé sur le long terme de 100 mg/j, à partir duquel des effets peuvent apparaître, et auquel un facteur d'incertitude de 4 a été appliqué (EFSA, 2006b).

2.2.3.5 Vitamine B₁₂

La vitamine B₁₂ (ou cobalamine) est impliquée notamment dans des réactions de transfert sur les chaînes métaboliques (Guéant et al., 2001), en particulier dans des réactions de méthylation. Une grande partie de la vitamine B₁₂ ingérée quotidiennement est stockée par le foie et une faible partie de cette réserve est excrétée (0,1-0,2 %).

La vitamine B₁₂ n'est apportée que par les aliments d'origine animale. Après les abats, les mollusques (bulot, bigorneau, moule...), mais aussi certains poissons, constituent une source importante de vitamine B₁₂ (jusque 20 µg/100 g).

Tenant compte de la faible biodisponibilité de la vitamine B₁₂ alimentaire, l'ANC a été estimé à 2,4 µg/j (BNM de 2 à 2,3 µg/j). Cet ANC est largement couvert par les apports moyens de la population française : 6,5 µg/j chez les hommes et 5,1 µg/j chez les femmes (AFSSA, 2009k). Les prévalences d'inadéquation sont très faibles en population générale (Touvier et al., 2006).

L'EFSA n'a pas proposé de limite de sécurité pour la vitamine B₁₂, en raison de la difficulté à identifier de façon claire un effet critique.

2.2.4 Oligoéléments

Les oligoéléments sont des minéraux nécessaires à l'organisme. Ils sont principalement des cofacteurs enzymatiques ou entrent dans la constitution de certaines hormones ou certaines vitamines. Les produits de la mer sont une source non négligeable de certains minéraux : sélénium, iode, zinc et fer.

2.2.4.1 Sélénium

Le sélénium (Se) participe aux mécanismes de défense antioxydante de l'organisme. Mais il n'agit pas comme un antioxydant à proprement parler dans la mesure où il ne permet pas à lui seul une réaction de réduction. Chez l'homme, il apparaît sous deux formes : sélénométhionine et sélénocystéine. Il remplace le soufre dans les deux acides aminés et participe ainsi à la formation des protéines. La sélénocystéine est incorporée dans des protéines spécifiques appelées sélénoprotéines, dont les rôles sont relativement bien connus. Une vingtaine de ces protéines a été identifiée, parmi lesquelles les thiorédoxines réductases qui catalysent la régénération des vitamines C et E réduites (Ducros, 2001), les GSH-Px qui catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (Murray et al., 2002), et la sélénoprotéine P qui serait impliquée dans la protection antioxydante de la paroi des vaisseaux sanguins. Un déficit en sélénium entraîne une diminution de concentration de ces enzymes. Certaines études ont suggéré qu'un déficit sélénique favorisait le développement de certaines pathologies, notamment virales, et des cancers, et qu'une supplémentation en sélénium chez des patients déficients aurait des effets bénéfiques. Il a également été montré chez l'animal, notamment diabétique, que le sélénium pouvait être impliqué dans la protection cardiovasculaire (Tanguy et al., 2003), notamment en limitant la peroxydation lipidique (Mozaffarian, 2009). Néanmoins, les études épidémiologiques n'ont pas montré d'association significative chez l'homme.

Si les effets neurotoxiques du méthylmercure sont amplifiés par une déficience en sélénium (Seppanen et al., 2004), il n'a en revanche pas été montré dans les études de cohortes que le sélénium apporté par l'alimentation protégeait de ces effets (Choi et al., 2008). Cependant, quelques études chez l'animal ou *in vitro* supportent cette hypothèse (Mozaffarian, 2009). Il a également été suggéré que le ratio sélénium/méthylmercure pouvait être important dans les processus de toxicité du méthylmercure (Rice, 2008).

Les aliments riches en sélénium sont les abats (jusque 170 µg/100 g de poids frais), les poissons (jusque 116 µg/100 g) et les volailles (jusque 34 µg/100 g) (AFSSA-CIQUAL, 2008). Certains crustacés comme le crabe, ou certains mollusques, comme la seiche, sont aussi de bonnes sources de sélénium (62 et 65 µg/100 g, respectivement). Néanmoins dans la population générale ce sont les volailles et gibiers qui contribuent le plus à l'apport en sélénium du fait de leur plus forte consommation (AFSSA, 2009k).

L'ANC dépend de l'âge et du sexe et a été déterminé à partir de données d'activité de l'enzyme GSH-Px. Il est de 50 µg/j pour les femmes de moins de 55 ans (BNM de 38,5 µg/j), 60 µg/j pour les hommes de moins de 65 ans (BNM de 46,2 µg/j), les femmes de 55 à 75 ans, les femmes enceintes (3e trimestre de grossesse) ou allaitant, 70 µg/j pour les hommes de 65 à 75 ans (BNM de 53,9 µg/j), et 80 µg/j pour les personnes de plus de 75 ans (BNM de 61,6 µg/j).

En Europe, l'apport de sélénium a été estimé à 24-89 µg/j chez l'adulte (SCF, 2000). Plus spécifiquement en France, l'apport moyen est estimé à 58,8 µg/j chez les hommes et 47,7 µg/j chez les femmes (AFSSA, 2009k). Les apports en sélénium de la population française sont jugés comme n'étant pas optimaux, particulièrement chez les personnes âgées malades ou en institution (AFSSA,

2009b). Les personnes âgées (plus de 75 ans) sont considérées comme à risque d'insuffisance d'apports, avec une prévalence d'inadéquation de 84,2% [IC_{95%} : 71,5-96,8] (ANSES, non publiée). Une limite de sécurité a été proposée en 2000 par l'EFSA, à 300 µg/j pour les adultes, dérivée d'une dose sans effet chez l'homme de 850 µg/j, avec application d'un facteur d'incertitude de 3 (incertitude liée à la méthodologie des études) (SCF, 2000). L'effet critique retenu est l'apparition de signes cliniques de sélénose, pouvant se traduire par une dermatite chronique (perte des ongles, irritation du cuir chevelu), des convulsions, des douleurs au niveau des extrémités, des nausées, etc.

2.2.4.2 Iode

Vie fœtale exclue, l'unique fonction biologique de l'iode tient en son incorporation dans la tri-iodothyronine et la thyroxine, deux hormones thyroïdiennes impliquées dans de nombreuses fonctions (croissance, différenciation tissulaire, métabolisme lipidique, etc.). Elles jouent également un rôle prépondérant dans le développement du système nerveux central du fœtus et du jeune enfant. Plus de 90% de l'iode ingéré est absorbé, bien que l'absorption varie en fonction de la matrice alimentaire (AFSSA, 2005b). La capacité de stockage de l'organisme est dépendante de l'apport. Une carence provoque une turgescence de la glande thyroïde se manifestant par un goitre, mais aussi un retard de croissance chez les enfants, et des troubles mentaux. De plus, les effets d'une carence en iode seraient amplifiés par une déficience d'apport en sélénium et en fer, bien que les mécanismes soient discutés (Beard et al., 1998, Derumeaux et al., 2003).

Les produits de la mer, et principalement les mollusques et crustacés, constituent la principale source d'iode. Le sel enrichi (5 µg/100 g) est également un vecteur d'iode, ainsi que les produits laitiers du fait de l'enrichissement de l'alimentation animale et de l'utilisation des désinfectants iodés pour garantir la qualité microbiologique du lait (AFSSA-CIQUAL, 2008, AFSSA, 2005b).

L'ANC en France est fixé à 150 µg/j pour les adultes et les enfants de 10 ans et plus (BNM de 115,5 µg/j). Pour les femmes enceintes et allaitant, l'ANC est de 200 µg/j. En population générale, les résultats de l'étude INCA2 montrent que le BNM est à peine couvert chez les femmes, avec un apport moyen de 116,7 µg/j, et mieux couvert chez les hommes, avec un apport moyen de 135,8 µg/j (AFSSA, 2009k). Les prévalences d'inadéquation d'apports sont néanmoins inférieures à 40% chez les adultes (ANSES, non publiée).

En 2005, l'AFSSA a adopté la limite de sécurité de 600 µg/j fixée par le SCF en 2002 (SCF, 2002) et validée par l'EFSA en 2006 (EFSA, 2006b), bien que d'autres pays et l'OMS aient proposé des limites plus élevées, de l'ordre de 1000-1100 µg/j (WHO, 1996).

2.2.4.3 Zinc

Le zinc, qui intervient dans plus de 200 enzymes, joue un rôle dans un grand nombre de fonctions : la fonction immunitaire, la formation cellulaire, la santé osseuse (ralentissement de la décomposition de l'os), et la fonction visuelle. Il est indispensable à l'activité enzymatique, et active notamment les acide

désoxyribonucléique et acide ribonucléique polymérase. Si certains auteurs ont montré un effet positif d'une supplémentation en zinc et en antioxydants sur la dégénérescence maculaire liée à l'âge, les revues les plus récentes s'accordent sur le fait que les preuves sont insuffisantes (Johnson, 2010, Krishnadev et al., 2010).

Les principales sources alimentaires de zinc sont les coquillages et certains crustacés (jusque 16,7 mg/100 g de poids frais pour les huîtres dans lesquelles le zinc est très biodisponible), le foie (12,9 mg/100 g), la viande rouge (jusque 10,5 mg/100 g), et certains fromages (jusque 9 mg/100 g) (AFSSA-CIQUAL, 2008).

L'ANC pour le zinc dépend de la qualité de l'alimentation. En effet, l'absorption intestinale du zinc est d'autant plus élevée que le régime est riche en protéines animales, à l'inverse la présence de phytates dans les matrices végétales diminue cette absorption. Elle est de l'ordre de 20 à 30% pour un régime de type occidental (Arnaud, 2001). Aussi, pour une alimentation équilibrée mais relativement riche en produits animaux, l'ANC est de 9 mg/j pour les hommes adultes, 7 mg/j pour les femmes, et 8 mg/j pour les personnes âgées (Arnaud, 2001). Pour un régime varié mais pauvre en produits animaux, l'ANC est donc plus élevé : 14 mg/j pour les hommes adultes et les personnes âgées, et 12 mg/j pour les femmes. En population générale, les apports sont estimés à 12,4 mg/j chez les hommes adultes et 9,1 mg/j chez les femmes, sans différence significative entre les différents groupes d'âge. Les prévalences d'inadéquation d'apports s'élèvent au plus à 44,4% [IC_{95%} : 29,4 ; 59,4] chez les personnes de plus de 75 ans (ANSES, non publiée).

La toxicité chronique du zinc est souvent liée à une supplémentation excessive et prolongée (50 à 300 mg/j). Du fait de la compétition entre l'absorption du zinc et du cuivre, la plupart des effets toxiques d'un apport trop élevé en zinc sont les mêmes que ceux d'une déficience en cuivre. Ainsi, une dose sans effet de 50 mg/j a été déterminée chez l'homme pour une large gamme d'apports en cuivre. Une limite de sécurité de 25 mg/j a été dérivée de cette dose sans effet pour les adultes, dont les femmes enceintes et allaitant (EFSA, 2006b).

2.2.4.4 Fer

Le fer est un minéral essentiel au transport de l'oxygène par les hématies et c'est un constituant essentiel des mitochondries. Bien que seuls 10% du fer alimentaire soient absorbés, lorsqu'il provient d'aliments d'origine animale tels que les viandes et poissons (fer héminique ou ferreux), le fer est mieux absorbé que lorsqu'il provient des végétaux (céréales, légumes, etc.). Certains autres nutriments tels que la vitamine C favorise son absorption. D'autres en revanche, tels que les polyphénols ou les fibres, la limitent.

Les aliments les plus riches en fer total sont les épices et plantes aromatiques (thym, curry, coriandre, cannelle...), les aliments à base de chocolat, les abats, et les mollusques, notamment les clams (13,1 mg/100 g), bigorneaux (13 mg/100 g), et moules (10,2 mg/100 g) (AFSSA-CIQUAL, 2008).

En France, l'apport moyen de fer est estimé à 14,9 mg/j chez les hommes et 11,5 mg/j chez les femmes, pour un ANC compris entre 9 et 30 mg/j chez l'adulte, selon son âge et son sexe. La prévalence d'inadéquation d'apports est quasi nulle chez les hommes, mais particulièrement élevée

chez les femmes de 15 à 54 ans : 67,1-74,9% [IC_{95%} : 61,3 ; 80,6] (Touvier et al., 2006). Les femmes de 15 à 54 ans sont par conséquent considérées comme à risque d'insuffisance d'apports. Chez les végétariens, même si les apports en fer total sont relativement proches de ceux de la population générale (médiane de 12,5 à 22,5 mg/j selon le régime alimentaire pour les hommes, et 11,2 à 16,9 mg/j pour les femmes), la majorité de ces apports provient de produits végétaux et la part de fer héminique est très faible (<0,5%) (Leblanc et al., 2000).

Il n'y a pas de limite de sécurité fixée pour le fer par l'EFSA. En revanche, la limite de sécurité à 28 mg/j a été retenue en France (Coudray and Hercberg, 2001). Aux Etats-Unis, une autre limite a été proposée à 45 mg/j pour les adultes, pour les apports via l'alimentation générale et les compléments alimentaires (Panel on Micronutrients, 2001).

2.3 Consommations de produits de la mer

2.3.1 Recommandations en France et à l'étranger

De nombreux organismes ont émis des recommandations de consommation de poissons principalement vis-à-vis du risque cardiovasculaire de la population et du bénéfice cardiovasculaire lié à l'apport d'EPA et DHA. Le

Tableau 2 qui en présente quelques exemples, montre la convergence de ces recommandations, la plupart des agences et organismes recommandant une consommation de deux fois par semaine, dont un poisson gras. Plus précisément, les recommandations de consommation sont de l'ordre de 113 à 227 g/sem (4-8 onces), dont la moitié au moins de poissons gras, les plus riches en EPA et DHA (Kris-Etherton et al., 2002, Lichtenstein et al., 2006).

La définition de poissons « gras » n'est jamais explicitée, mais la communauté scientifique s'accorde à dire qu'un poisson gras a une teneur en matière grasse d'au moins 2-5%.

Tableau 2. Recommandations de consommation de poisson au niveau international

Organisme / Pays	Date	Recommandation de consommation de poisson
Committee on Medical Aspects of Food Policy / Royaume Uni	1994	2 fois/sem, dont un gras
Programme National nutrition santé (PNNS) / France	2001	Au moins 2 fois/sem (sans oublier les poissons gras)
American Heart Association / Etats-Unis	2002	En l'absence de MCV : poisson (gras) 2 fois/sem
Scientific Advisory Committee on Nutrition / Royaume Uni	2004	2 fois/sem, dont un gras
Health Council of the Netherlands / Pays-Bas	2006	2 portions/sem, dont au moins un gras (saumon, hareng, maquereau par exemple)
AFSSA / France	2010	2 portions/sem dont une portion de poisson à forte teneur en EPA+DHA, en variant les espèces et les lieux d'approvisionnement

MCV : maladie cardiovasculaire

Compte tenu de la nouvelle DHTP fixée par le JECFA en 2004 pour le méthylmercure, l'AFSSA a précisé en mars 2004, juillet 2006 et avril 2009, des recommandations spécifiques pour les femmes enceintes et allaitant, et les jeunes enfants (AFSSA, 2004, AFSSA, 2006c, AFSSA, 2009d) :

- pour les enfants en bas âge (1-30 mois), de veiller à ce qu'ils ne consomment pas plus de 60 grammes de poissons prédateurs sauvages par semaine, en évitant, à titre de précaution, la consommation d'espadons, marlins, sikis, requins et lamproies, en plus de leur consommation habituelle de poissons non prédateurs ;
- pour les femmes enceintes et allaitantes, de veiller à ne pas consommer plus de 150 grammes de poissons prédateurs sauvages par semaine, en évitant, à titre de précaution, la consommation d'espadons, marlins, sikis, requins et lamproies, en plus de leur consommation habituelle de poissons non prédateurs.

Par ailleurs, l'AFSSA a également émis des recommandations de non consommation des anguilles et des espèces réputées fortement bio accumulatrices pêchées dans certaines zones particulièrement contaminées par les PCB (AFSSA, 2008, AFSSA, 2009e, AFSSA, 2009h, AFSSA, 2009g, AFSSA, 2010f).

En revanche, il n'y a pas de recommandations spécifiques de consommation des autres produits de la mer (mollusques, crustacés, tuniciers ou échinodermes) en France, ni dans les autres pays à notre connaissance. De façon générale, le PNNS recommande la consommation de « viandes et volailles, produits de la pêche et œufs » une à deux fois par jour (Hercberg, 2003). La spécification « au moins 2 fois par semaine » est apportée pour les poissons, mais aucune mention n'est faite pour les autres produits. De plus aucune précision n'est donnée sur l'origine des poissons, sauvages ou d'élevage.

2.3.2 Consommations de produits de la pêche en France

2.3.2.1 En population générale

Les résultats de l'étude INCA2 (AFSSA, 2009k, Dubuisson et al., 2010) montrent que 79,3% des français adultes et 78,7% des enfants consomment du poisson (de mer comme d'eau douce), contre 33,5% et 17,9%, respectivement, pour les autres produits de la pêche. Il convient de noter que ces pourcentages de consommateurs sont calculés sur une semaine d'enquête alimentaire (carnet individuel de consommation de 7 jours consécutifs). Ils sont par conséquent certainement sous-estimés pour les aliments consommés très occasionnellement (mollusques et crustacés par exemple). Environ 12% des poissons consommés en France seraient issus de l'élevage, majoritairement du saumon et de la truite arc-en-ciel. A titre de comparaison, la part des poissons d'élevage consommés en Europe est de 17% en moyenne et 50% au niveau mondial (AFSSA, en cours).

La consommation moyenne journalière de produits de la pêche est de 31 g chez les adultes (ou 217 g/sem), dont 26,5 g de poissons et 4,5 de mollusques et crustacés. Chez les enfants elle est de 19,7 g (ou 137,9 g/sem), dont 18,3 g de poissons. De façon générale, on observe une stagnation de ces niveaux de consommations depuis l'enquête INCA1 de 1999 (Volatier, 2000).

Néanmoins, seuls 22% des adultes et 23% des enfants atteignent la fréquence de consommation de 2 fois par semaine (AFSSA, 2009a) et moins de 10% consomment des espèces grasses. Cela se traduit comme décrit précédemment par des apports en AGPI-LC n-3 inférieurs aux recommandations, excepté aux plus forts percentiles.

Les espèces de poisson consommées les plus citées par les enquêtés d'INCA2 sont le thon (thon blanc en conserve), le saumon, la sardine (principalement en conserve également), le colin ou lieu noir, et le cabillaud. Parmi les mollusques et crustacés, les crevettes apparaissent loin devant les moules, huîtres et coquilles Saint-Jacques. Les produits dérivés des poissons sont également souvent déclarés, en particulier le surimi.

Les produits de la mer sont davantage consommés par les femmes que les hommes (82 % des femmes versus 77 % des hommes pour les poissons et 35 % versus 32 % pour les mollusques et crustacés) et de façon générale, davantage par les personnes âgées.

La consommation de produits de la mer se fait de manière préférentielle au domicile, pour les adultes comme pour les enfants. La consommation de poissons est plus spécifiquement associée au repas du midi alors que celles de mollusques et crustacés est plutôt associée au dîner. Par ailleurs, le niveau moyen de consommation augmente de façon significative avec le niveau d'éducation, ce qui a déjà été observé (Cohen et al., 2008). Les aliments « sains », tels que le poisson, sont généralement plus coûteux, et les sujets de statut socio-économique plus bas, seraient moins sensibilisés aux problèmes de santé publique, expliquant une consommation plus limitée de ces produits.

2.3.2.2 Chez les forts consommateurs

Réalisée entre 2004 et 2006, l'étude CALIPSO (Consommations alimentaires de produits de la mer et imprégnation aux éléments traces, polluants et oméga 3) avait pour but de caractériser le risque et le bénéfice liés à la consommation de produits de la mer, dans une population de forts consommateurs localisés sur quatre sites côtiers. Cette étude comprend trois étapes majeures (Figure 1) :

- la première étape consiste en une enquête alimentaire, permettant la collecte de données de consommation ;
- la seconde étape regroupe un volet biologique (prélèvements biologiques parmi certains sujets) et un volet dit « Etude de l'Alimentation Totale ». Ce volet correspond à un échantillonnage alimentaire réalisé à partir des données de consommations recueillies et selon la méthodologie standardisée des études de l'alimentation totale permettant d'être représentatif des consommations alimentaires (Sirot et al., 2008b), et à l'analyse de ces mêmes échantillons pour les nutriments et contaminants d'intérêt ;
- la troisième et dernière étape consiste en une évaluation des apports et expositions des sujets de l'étude, par une méthode directe (via les biomarqueurs d'apports et d'exposition) et par une méthode indirecte (via les calculs conventionnels d'estimation des apports et expositions, par croisement des données de consommation, contamination et composition).

La méthodologie de l'étude est détaillée dans les Etudes 1, 2, 3 et 4.

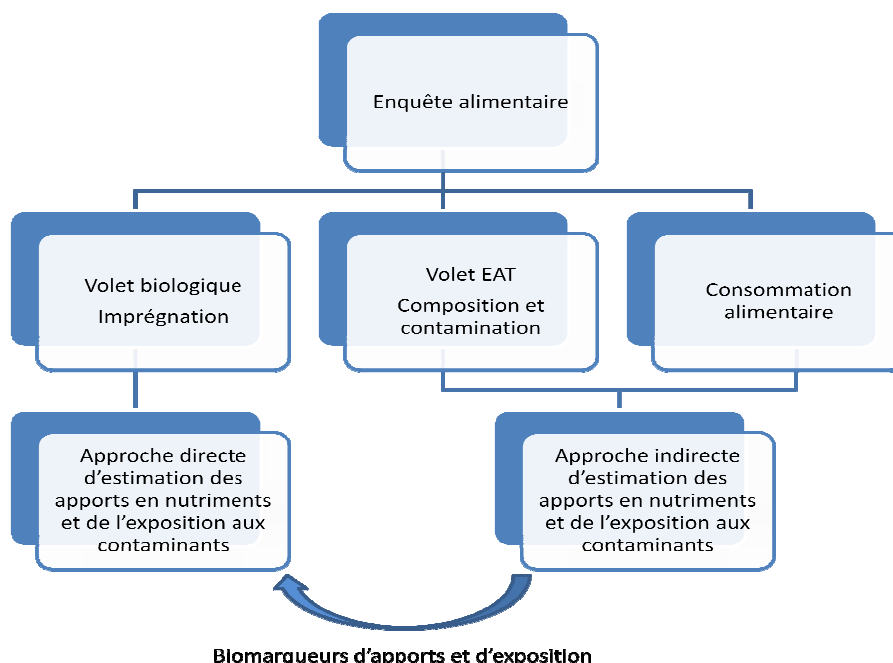


Figure 1. Description schématique des étapes de l'étude CALIPSO

Chez ces forts consommateurs, la consommation moyenne de poissons s'élève à 633 g/sem (90 g/j), 637 g/sem (91 g/j) et 788 g/sem (113 g/j), respectivement chez les hommes adultes (18-64 ans), les femmes adultes (18-64 ans) et les personnes âgées (65 ans et plus) (Bemrah et al., 2009). La part que représentent les poissons d'élevage et sauvages n'a pas été étudiée. Néanmoins, l'échantillonnage réalisé sur les sites d'étude tient compte de la disponibilité sur le marché des poissons d'élevage et des poissons sauvages, ainsi ce paramètre a pu être pris en compte dans l'estimation des apports en acides gras et de l'exposition aux contaminants.

Dans cette population, l'apport moyen d'EPA+DHA est de 1238 mg/j (Bemrah et al., 2009). La recommandation d'apport de 500 mg EPA+DHA/j est donc atteinte en moyenne. Néanmoins, il a été montré que 16% des sujets n'atteignaient pas les 500 mg EPA+DHA/j en raison d'une faible consommation de poissons gras (plus de 2 g lipides/100 g).

2.4 Analyses risque/bénéfice

2.4.1 Définitions et contexte historique

Le risque correspond à la probabilité d'apparition d'un effet néfaste dans un organisme, un système, une population ou un sous-groupe populationnel, en réaction à l'exposition à un agent (IPCS, 2004, FAO/WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2005).

L'analyse du risque en consommation alimentaire est un concept apparu avec l'accord de Marrakech en 1994. En entérinant l'application des mesures sanitaires cet accord définit les règles fondamentales concernant l'innocuité des produits alimentaires ainsi que les normes sanitaires pour les animaux et végétaux. S'il permet aux pays d'établir leurs propres normes, il dispose aussi que les réglementations doivent avoir un fondement scientifique comme base de justification législative pour éviter les entraves au commerce international et à la circulation des denrées.

En parallèle du risque, le bénéfice correspond à la probabilité d'apparition d'un effet positif et/ou de réduction d'un risque, dans un organisme, un système, une population ou un sous-groupe populationnel, en réaction à l'exposition à un agent (EFSA, 2006a).

L'alimentation met en balance à la fois le risque et le bénéfice, dans la mesure où elle apporte des nutriments nécessaires pour couvrir les besoins physiologique de l'organisme et qui en excès peuvent être néfastes, mais aussi des contaminants impliqués dans les processus physiopathologiques.

Traiter le risque seul conduit souvent à des recommandations de type « limiter la consommation », pouvant conduire à la non-couverture d'apports nutritionnels. Et traiter du seul bénéfice peut conduire à l'émission de recommandations de type « augmenter la consommation », pouvant avoir des conséquences sanitaires liées au dépassement de doses toxicologiques. Aussi, l'analyse risque/bénéfice (WHO, 1997, WHO, 2006a, EFSA, 2006a) a-t-elle pour but de déterminer pour un régime alimentaire, un aliment, ou encore un ou plusieurs composés nutritionnels ou contaminants, un apport compatible avec le fonctionnement de l'organisme. Autrement dit, le but est d'établir d'une part le minimum nécessaire à ce fonctionnement, à la réduction de sévérité d'un effet néfaste, ou la prévention d'une pathologie, et, d'autre part, le maximum tolérable par l'organisme n'entraînant pas d'effet néfaste sur la santé générale ou sur un organe cible, en particulier chez les populations les plus sensibles (Renwick et al., 2004).

2.4.2 Méthodologies d'analyse du risque et du bénéfice

De nombreux travaux se sont penchés sur le risque et le bénéfice en alimentation, et en particulier liés à la consommation de poisson (Tableau 3). On peut relever des études traitant :

- du risque lié aux contaminants seul ;

- des risques nutritionnels ou des bénéfices nutritionnels ;
- des risques liés aux contaminants et des bénéfices nutritionnels.

Ces approches sont relativement limitées en termes d'interprétation, ou comportent des biais. La plupart des études, pour celles qui traitent des contaminants, ne concerne que le méthylmercure et/ou les dioxines et PCB. Quant aux bénéfices, bien souvent seuls les apports en oméga 3 (EPA et DHA, ou DHA seuls) sont examinés. Les espèces de poisson sont souvent traitées séparément, sans être intégrées dans un régime alimentaire complet.

Pour traiter des bénéfices et/ou des risques liés à la consommation, il existe deux types de méthodes : les méthodes semi-quantitatives et les méthodes quantitatives.

- les premières évaluent le risque et le bénéfice séparément et les expriment dans des unités distinctes ;
- les secondes font appel à des indices mathématiques tenant compte à la fois du risque et du bénéfice, et contrairement aux méthodes semi-quantitatives, permettent d'exprimer le risque et le bénéfice dans une même unité.

Une autre façon de classer les différentes approches est la comparaison ou non des apports estimés ou de l'exposition dite externe (calculée par croisement de données de consommation et de contamination) aux référentiels nutritionnels (ANC, BNM) ou toxicologiques (limite de sécurité, VTR¹, ou seuil d'imprégnation par exemple).

Dans le cas de l'utilisation de ces référentiels, il s'agit de calculer les apports nutritionnels ou l'exposition via l'alimentation et de comparer ces valeurs aux référentiels. Cette approche permet de qualifier une consommation donnée et d'en appréhender le risque et/ou le bénéfice, ou de calculer une consommation permettant d'atteindre un certain niveau de protection au regard des contaminants et/ou de s'assurer de la couverture des besoins nutritionnels. Néanmoins une ambiguïté demeure parfois dans l'utilisation de telles valeurs de référence. Les valeurs nutritionnelles (ANC ou BNM) sont définies sur la base de données chez l'homme, des besoins indispensables pour différentes catégories d'âge de la population et pour différentes situations physiologiques, et des effets d'une insuffisance d'apport. Concernant le risque toxicologique, les VTR sont souvent déterminées sur la base de données chez l'animal, en l'absence de données suffisantes chez l'homme (cas des PCB par exemple, pour lesquels la VTR a été évaluée à partir de données chez le singe). Dans ce cas, un effet critique est choisi sur la base des études disponibles, et des facteurs d'incertitude sont appliqués à la dose sans effet la plus basse, pour tenir compte de la variabilité interspécifique et des incertitudes liées à la méthodologie des études (Figure 2). Cette ambivalence de l'utilisation des données chez l'homme d'une part, et des données chez l'animal d'autre part est susceptible de biaiser l'analyse dans la mesure où le bénéfice et le risque ne sont pas évalués sur une base commune.

¹ DJA, DJT, DHTP, DMTP pour les substances à seuil ; pour les substances cancérigènes génotoxiques (sans seuil d'effet) c'est-à-dire entraînant une mutation directe sur un ou plusieurs gènes d'une cellule, l'évaluation du risque repose sur la relation dose/réponse caractérisée par sa pente (CSF, voir plus loin)

Tableau 3. Synthèse des méthodes risque/bénéfice

Risque/bénéfice	Méthode	Semi-quantitative / Quantitative	Données nécessaires	Avantages de la méthode	Inconvénients de la méthode	Références
Risque contaminant	Consommation sans risque	Semi-quantitative	Contamination, VTR	Exposition calculée sur la vie entière, Utilisation des contaminations réelles	Un seul aliment à la fois (ou groupe homogène) et un seul contaminant, Non prise en compte du reste de l'alimentation	Hites et al., 2004, Domingo et al., 2007a
Risque contaminant	THQ	Semi-quantitative	Contamination, consommation, VTR	Exposition calculée sur la vie entière, Données d'exposition réelles, Plusieurs contaminants considérés	Un seul contaminant à la fois, Non prise en compte du reste de l'alimentation	Storelli et al., 2008
Bénéfice nutritionnel	Etudes épidémiologiques	Semi-quantitative ou quantitative	Consommation, composition, données biologiques, Relations dose-réponses	Plusieurs nutriments considérés	Un seul nutriment à la fois, Un seul effet considéré (et non prise en compte du risque lié aux contaminants) Nécessité de relations dose-réponse si biomarqueur	Berry et al., 2001, Dallongeville et al., 2003, Sands et al., 2005, Block et al., 2008...
Risque contaminant / Bénéfice nutritionnel	Consommation sans risque (et comparaison des apports aux ANC) Consommation permettant d'atteindre les ANC (et comparaison des expositions aux VTR)	Semi-quantitative	Contamination, VTR Composition, ANC	Utilisation des contaminations réelles	Un seul contaminant ou un seul nutriment	Gagnon et al., 2004, Domingo et al., 2007, Antonijevic et al., 2007, Sioen et al., 2008
Risque contaminant / Bénéfice nutritionnel	Multi-dimensionnelle	Semi-quantitative	Apports/Exposition ANC/VTR	Graphique (visuel), Peut tenir compte du reste de l'alimentation	Interprétation difficile dès que plus de 2 éléments sont considérés (nombre de dimensions), Uniquement factuel	Verger et al., 2008, Sioen et al., 2008, NT AFSSA 2007
Risque contaminant / Bénéfice nutritionnel	BCRR, BNRR	Semi-quantitative	Contamination, VTR Composition, ANC	Plusieurs contaminants considérés, plusieurs aliments possibles	Problème d'additivité des risques, Ne fait pas intervenir la consommation : indice propre à l'aliment	Foran et al., 2005
Risque contaminant / Bénéfice nutritionnel	QALY	Quantitative (unité = années de vie)	Pondérations, Relations dose-réponse	Tous les risques et tous les bénéfices pris en compte	Problème éthique, Nécessité de relations dose-réponse pour tous les effets, Non prise en compte des interactions possibles	Cohen et al., 2005, Guevel et al., 2008
Risque contaminant / Bénéfice nutritionnel	Ratio « RR » risque-bénéfice	Quantitative (sans unité)	Relations dose-réponse, Exposition	Pas de pondérations des différents effets	Une seule espèce considérée à la fois, Un ratio par effet, pas d'additivité, Nécessité des doses-réponses pour tous les effets, Non prise en compte des interactions possibles	Ginsberg et Toal, 2009

VTR : valeur toxicologique de référence ; CSF (*Cancer slope factor*) : excès de risque unitaire d'apparition de cancer ; ANC : Apport nutritionnel conseillé ; LS : Limite de sécurité ; THQ (*Target hazard quotient*) : quotient de danger ; BCRR (*benefit cancer risk ratio*) : ratio bénéfice/risque cancérigène génotoxique ; BNRR (*benefit non-cancer risk ratio*) : ratio bénéfice/risque non-cancérigène ; QALY : Quality adjusted life year.

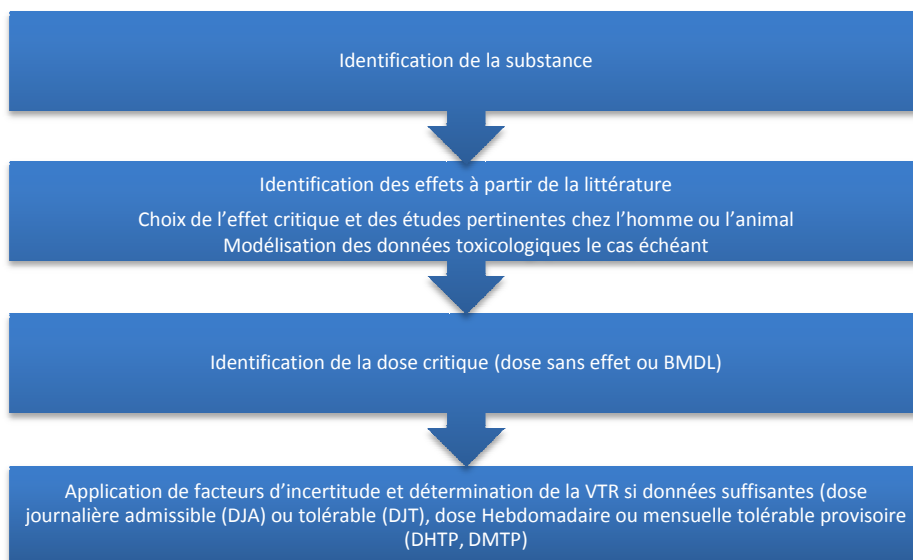


Figure 2. Illustration de la caractérisation du danger et des étapes de la définition des VTR

L'alternative à l'utilisation des valeurs de référence est l'utilisation de données épidémiologiques (de type dose-réponse ou *odd-ratios*) permettant de quantifier l'effet de la consommation sur un événement santé, comme l'incidence d'une pathologie. Ce type de méthode s'appuie sur des données uniquement chez l'homme, mais nécessite un grand nombre de données, qui sont bien souvent insuffisantes ou trop spécifiques (d'une population par exemple) et ne couvrent pas l'ensemble des éléments étudiés.

2.4.2.1 Risques liés aux contaminants

L'une des approches d'évaluation du risque seul, en prenant l'hypothèse selon laquelle 100% de l'exposition est d'origine alimentaire, consiste à calculer la consommation « sans risque », c'est-à-dire la consommation maximale entraînant l'atteinte la VTR dans le cas d'un contaminant à effet à seuil, ou le risque acceptable dans le cas d'un contaminant cancérigène génotoxique (sans seuil d'effet). Le niveau de risque acceptable est généralement admis à 1.10^{-5} , c'est-à-dire qu'il est considéré comme acceptable pour un cas de cancer développé pour 10 000 personnes, le risque inacceptable étant de 1.10^{-4} , et le risque négligeable (« *no concern* ») étant à 1.10^{-6} . Cette méthode est à rapprocher de l'utilisation des quotients de danger, ou *Target hazard quotients* (THQ). Le quotient de danger correspond au ratio entre l'exposition à un contaminant et l'exposition considérée sans risque. Ainsi, une consommation ou exposition sans risque correspond à un THQ de 1, et un THQ supérieur à 1 indique que la consommation entraîne un dépassement des VTR, donc un risque non négligeable.

En 2004, suite à la « crise du saumon », Hites et al (2004) ont ainsi calculé un niveau de consommation sans risque de saumon sauvage et d'élevage. Les contaminants d'intérêt considérés étaient les dioxines, PCB, toxaphène et dieldrine (des composés organochlorés). Les consommations

sans risque de développement de cancer à long terme ont été calculées sur la base d'une formule développée par l'US-EPA (US EPA, 2000) :

$$CP_{lim} = \frac{NRA \cdot PC}{CSF \cdot Cm}$$

Où

- CP_{lim} correspond à la consommation maximale de poisson (kg/j) ;
- NRA correspond au niveau de risque individuel acceptable maximum, sur la vie entière (sans unité) ;
- PC correspond au poids corporel (kg) ;
- CSF correspond au *cancer slope factor*, voir ci-dessous $((\text{mg/kg.j})^{-1})$;
- C_m correspond à la concentration mesurée du contaminant m dans une espèce donnée de poisson (mg/g).

La consommation calculée (CP_{lim}) représente la consommation de poissons journalière maximale permettant de rester en-dessous du niveau de risque maximum choisi (NRA), en considérant une consommation régulière durant la vie entière.

Cette méthode tient compte de la contamination du poisson, du poids corporel du consommateur, d'un niveau de risque acceptable et d'un facteur d'apparition de cancer (*Cancer slope factor*, CSF, ou excès de risque unitaire) qui décrit l'excès de risque associé à une exposition à 1 mg ou 1 µg de composé par kg de poids corporel. Le CSF caractérise la pente de la relation dose/réponse supposée linéaire entre la substance et l'apparition d'un cancer. Le CSF correspond à une estimation haute (en général à la borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95%) de l'augmentation du risque de développer un cancer suite à l'exposition à un agent durant la vie entière. Cette estimation est exprimée comme une proportion de la population affectée, par unité d'exposition $((\text{mg/kg.j})^{-1})$. Elle est généralement utilisée pour les faibles doses d'exposition, c'est-à-dire le « début » de la courbe dose-réponse modélisant l'apparition de la pathologie suite à l'exposition à l'agent.

S'appuyant sur l'hypothèse des risques cumulatifs, un niveau de risque est calculé pour chacun des composés (en affectant le CSF correspondant), la somme donnant le risque total de la consommation de chaque poisson étudié séparément.

Les recommandations de consommation issue de l'utilisation de cette méthode pour les dioxines, PCB et organochlorés, étaient de moins d'une portion par mois à 8 par mois, selon la provenance du saumon (origine et lieu de commercialisation) (Hites et al., 2004).

La même méthode a été utilisée pour calculer des consommations sans risque pour différents poissons et autres produits de la pêche, tenant compte cette fois de substances à effet à seuil (utilisant les VTR du JECFA) et cancérogènes génotoxiques (utilisant les CSF de l'US-EPA) : méthylmercure, cadmium, hexachlorobenzène, PCDD/F, PCB-DL et hydrocarbures aromatiques polycycliques (Domingo et al., 2007a). Compte tenu d'un CSF élevé, les hydrocarbures aromatiques polycycliques se montrent être les substances limitantes pour la majorité des espèces, c'est-à-dire

celles pour lesquelles le risque acceptable est atteint avec la plus faible consommation : moins de 1 à 2 portions (de 227 g) par mois. En outre, pour l'espadon, la consommation critique est d'une demi-portion par mois, compte tenu du risque lié au méthylmercure. Pour le mulot, les dioxines et PCB limitent la consommation à 1 portion par mois.

S'appuyant sur la méthode des THQ, Storelli a étudié les risques liés à des consommations réelles de produits de la mer et de l'exposition au mercure, cadmium et plomb correspondant (Storelli, 2008). La formule de calcul des THQ était la suivante :

$$THQ = \frac{FE \cdot DE \cdot CO \cdot C}{RFD \cdot PC \cdot DEM} \cdot 10^{-3}$$

Où

- THQ correspond au quotient de danger (*target hazard quotient*) (sans unité) ;
- FE correspond à la fréquence d'exposition (365 jours/an) ;
- DE correspond à la durée d'exposition (70 ans, considérés comme la durée de vie entière) ;
- CO correspond à la consommation (poisson : 36 g/personne/j, mollusques céphalopodes : 9,80 g/personne/j, crustacés : 5,42 g/personne/j) ;
- C correspond à la concentration de contaminant dans les produits (µg/g) ;
- RFD correspond à la VTR ;
- PC correspond au poids corporel moyen (60 kg) ;
- DEM correspond à la durée d'exposition moyenne pour les contaminants non cancérogènes considérés (365 jours/an x DE).

L'étude a montré un risque lié à l'exposition au mercure via la consommation de thon (TQH = 1,87), de sébaste (THQ = 1,50) et de raie (THQ = 1,04). Les autres THQ étaient tous inférieurs à 1, pour toutes les espèces étudiées, qu'il s'agisse du mercure, du plomb ou du cadmium. Néanmoins il faut souligner que cette étude a utilisé les VTR de l'US-EPA en vigueur en 2000, et donc ne tient pas compte des VTR plus récentes pour le cadmium et le mercure par exemple.

Les avantages de toutes ces approches sont de tenir compte de l'exposition du consommateur sur la vie entière, ainsi que de la contamination réelle des espèces (rarement des données françaises). En revanche, le régime alimentaire total, et donc les contributions des autres aliments, ne sont jamais pris en compte. Les risques sont examinés pour différentes espèces de façon séparée, et non sur une consommation totale de produits de la mer. En tenant compte d'un apport de contaminants via la consommation de produits de la mer seule, les conclusions en termes de consommation ou non consommation présentant un risque ou non apparaissent très variables, pouvant aller de moins d'une fois par mois à aucune restriction de consommation, en fonction de l'espèce considérée et de sa provenance (Hites et al., 2004, Domingo et al., 2007a).

2.4.2.2 Risques ou bénéfices nutritionnels

De nombreux travaux ont traité des bénéfices nutritionnels liés à la consommation de produits de la mer, et plus particulièrement de poissons. Ce sont principalement les bénéfices santé liés à l'apport d'AGPI-LC n-3 qui ont été étudiés (voir 2.2.2), alors que les produits de la mer sont aussi vecteurs d'autres nutriments. La plupart de ces travaux sont des études épidémiologiques, de cohorte ou cas-témoins. En tenant compte d'un certain nombre de facteurs de confusion, l'association entre la consommation de poissons ou l'apport d'AGPI-LC n-3 et la prévalence de certaines pathologies est décrite. Une seule pathologie par étude est généralement considérée, et ce sont les maladies cardiovasculaires qui ont majoritairement été étudiées du fait du rôle des AGPI-LC n-3.

C'est parfois l'association entre un biomarqueur (teneur plasmatique en AGPI-LC n-3 par exemple) et la prévalence de la pathologie qui est décrite. Dans ce cas cependant, le manque de données concernant les relations doses-réponses entre apports nutritionnels et concentrations biologiques, notamment pour les AGPI-LC n-3, ne permet pas de définir quantitativement la consommation de poisson permettant d'atteindre le bénéfice santé pour le consommateur pris individuellement.

Ce type d'étude nécessite de disposer de données de consommation réelles et précises, ou de données d'apports nutritionnels de la population étudiée.

Si à notre connaissance, aucune étude n'a développé d'indices de bénéfice nutritionnel des produits de la mer équivalents aux indices développés pour les risques liés aux contaminants, des méthodes équivalentes aux « consommations sans risques » peuvent être utilisées. Dans ce cas il est calculé la consommation de poissons permettant d'atteindre les recommandations en AGPI-LC n-3 par exemple. Ces méthodes nécessitent des données de composition détaillées pour les espèces étudiées. Les bases de données de composition nutritionnelle (telle que la base française ou la base américaine) et les tables disponibles dans la littérature de façon générale sont plus complètes que les bases de données de contamination, et notamment présentent plus d'espèces.

Quelques études ont également traité du risque lié à l'apport excessif de certains nutriments comme l'apport d'AGPI-LC n-3 (voir 2.2.2.3) mais aucune étude, à notre connaissance, n'a évalué les risques de dépassement des limites de sécurité des nutriments majoritairement apportés par les produits de la mer. Or, qu'il soit d'ordre nutritionnel ou lié à des contaminants, le risque lié à la consommation d'un aliment doit être pris en compte dans l'évaluation du bénéfice nutritionnel. A l'échelle de l'aliment, le risque seul peut être évalué indépendamment du bénéfice dans la mesure où l'éviction de cet aliment ne compromet pas que le régime global apporte effectivement les nutriments nécessaires à l'organisme. Le bénéfice en revanche ne peut être évalué sans tenir compte des risques potentiels associés.

2.4.2.3 Risques liés aux contaminants et bénéfiques nutritionnels

Approches multidimensionnelles

Les approches multidimensionnelles consistent à calculer des apports en nutriments et en contaminants liés à une consommation, et à les comparer aux valeurs de référence nutritionnelles et toxicologiques quand elles existent. Ces calculs peuvent donc s'appuyer sur des données réelles de consommation, et donc d'apport et d'exposition. Une autre approche consiste en un calcul théorique de la consommation « sans risque » au regard des VTR, sous l'hypothèse selon laquelle 100% de l'exposition est d'origine alimentaire. Les apports nutritionnels correspondant à cette consommation peuvent alors être comparés aux références nutritionnelles. Une alternative consiste à l'inverse à calculer l'exposition aux contaminants correspondant à une consommation permettant d'atteindre les recommandations nutritionnelles, et à comparer cette exposition aux VTR.

Dans le cas de l'utilisation de données réelles de consommation, les approches multidimensionnelles peuvent faire appel à deux types de calculs. Les calculs de type déterministes consistent en un croisement des données de consommation individuelles ou moyennes avec des données fixes de composition ou contamination (moyenne, médiane, minimum, maximum, 95^e percentile...) (Figure 3). Les calculs de type probabilistes reposent sur la prise en compte de la variabilité de la consommation et/ou de la composition et de la contamination, par une modélisation ou un tirage au sort de ces données (simulation de type Monte Carlo) (Figure 4). Néanmoins, l'équivalence des approches probabiliste et non-probabiliste a été montrée dans une étude pour le calcul des probabilités de dépassement des valeurs de référence liées à la consommation de poissons (Sioen et al., 2008a). En effet, les apports par la consommation de produits de la mer calculés par les deux méthodes avec un niveau de finesse équivalent (croisement des données au niveau de l'item alimentaire) apparaissaient très corrélés pour le méthylmercure, les PCBi, le total en TEQ, et la somme EPA+DHA ($r > 0,75$; $P < 0,01$). Ainsi les probabilités de dépassement des VTR et de non-atteinte des références nutritionnelles étaient les mêmes. Pour une évaluation sur le long terme il n'apparaît pas nécessaire de tenir compte d'une variabilité supplémentaire dans la composition/contamination des produits dans la mesure où l'exposition sur le long terme en tient compte intrinsèquement (Sioen et al., 2008a). Néanmoins ceci ne reste valable que pour une évaluation à un niveau très fin, au niveau de l'aliment, car au niveau du groupe d'aliments les deux méthodologies ne donnent plus les mêmes résultats (Tressou et al., 2004).

Consommations (g/j)										Contamination (µg/g)	Expositions (µg/kg pc/j)
Sujet	Viande	Lait	Céréale	Pain	Café	Fruits	Légum	Riz	Alcool		
100101	400	770	1000	1030	67	12	200	400	0		
100102	1020	0	209	700	67	56	100	600	0	0,313	
100103	150	0	565	120	0	84	300	200	0	0,135	
100201	609	4360	260	2386	357	100	990	0	0	0,611	
100301	740	0	515	1095	0	120	0	0	0	0,728	
100302	30	0	90	410	22	120	0	0	0	0,984	
100303	195	0	450	980	70	86	80	1200	0	0,193	
100304	195	0	375	1145	15	453	80	1200	0	0,446	
100305	185	0	75	1140	70	59	0	1550	0	0,533	
100306	270	0	586	790	0	123	0	910	0	0,075	

Sujet	Poids	Expositio
10010	69	28,41
10010	70	19,97
10010	46	16,00
10020	100	34,87
10030	56	24,40
10030	54	7,55
10030	58	31,21
10030	60	31,69
10030	44	41,82
10030	24	63,60

Figure 3. Illustration du calcul déterministe de l'exposition

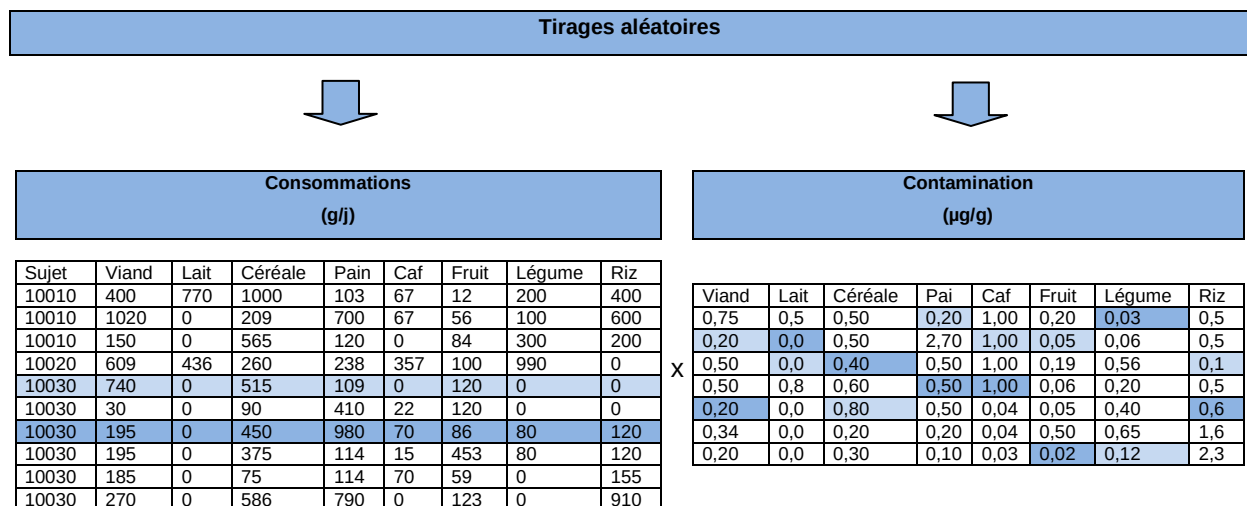


Figure 4. Illustration du calcul probabiliste de l'exposition

Sioen et al ont réalisé une analyse descriptive bidimensionnelle à partir de données de consommation des populations belge (Sioen et al., 2008b) et française (ANSES, 2007). Ces travaux ont montré que, de façon générale, les besoins en AGPI-LC n-3 ne sont pas couverts et l'apport est fortement lié à l'exposition aux dioxines et PCB dans les deux populations. Un apport supplémentaire en AGPI-LC n-3 serait associé à une augmentation du risque lié aux dioxines et PCB. Le méthylmercure quant à lui ne serait pas préoccupant en termes de santé publique.

Une étude française a présenté le même type d'analyse sur une population de consommateurs de poissons, en caractérisant l'apport d'AGPI-LC n-3 et l'exposition aux dioxines, PCB-DL et PCB-NDL (Verger et al., 2008). Seuls 41% des sujets avaient une balance risque/bénéfice optimale, c'est-à-dire atteignaient la recommandation nutritionnelle pour les AGPI-LC n-3 avec une exposition aux polluants organiques persistants inférieure aux valeurs toxicologiques. Plus généralement, des travaux menés

en Belgique ont montré qu'en population générale les recommandations étaient rarement atteintes pour la somme EPA+DHA, l'iode et la vitamine D (Sioen et al., 2008b, Antonijevic et al., 2007). A l'inverse, une consommation permettant d'atteindre la recommandation pour les AGPI-LC n-3 entraînerait un dépassement de la DJT pour la somme PCDD/F+PCB-DL, que soit considérée une consommation de produits de la mer seuls, ou de l'ensemble des contributeurs poissons, lait et viande bovine (Domingo et al., 2007a, Gagnon et al., 2004, Antonijevic et al., 2007, Sioen et al., 2008b).

Le constat de l'inadéquation des habitudes de consommation des populations avec les référentiels nutritionnels et/ou toxicologiques a conduit certains auteurs à rechercher les consommations « sans risque » à recommander. Une étude a évalué l'exposition aux PCDD/F et PCB-DL correspondant à une consommation de poissons, lait et viande bovine, permettant d'atteindre deux scénarios d'apports en EPA+DHA : 0,3% et 0,46% de l'apport total énergétique (Antonijevic et al., 2007). Les apports étaient calculés selon un calcul probabiliste (type Monte-Carlo) à partir des fréquences de consommations. Dans le premier scénario, seuls 2% de la population présentaient une exposition aux PCDD/F+PCB-DL inférieure à la valeur toxicologique de référence, et aucun individu dans le second scénario.

En 2005, Foran et al ont proposé une approche de type « consommation sans risque » s'appuyant sur le calcul d'indices de bénéfice/risque de consommation de saumon d'élevage et sauvage (Foran et al., 2005). Deux indices étaient calculés, le BCRR (*benefit cancer / risk ratio*) pour le ratio bénéfice/risque cancérigène génotoxique, et le BNRR (*benefit non-cancer / risk ratio*) pour le ratio bénéfice/risque autre que cancérigène génotoxique, pour des effets à seuil, selon les formules suivantes :

$$BCRR = \frac{\sum_{i=1}^n C_{n-3,i}}{\sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^K C_{k,i} \frac{CSF_k}{70} \cdot 10^5}$$

$$BNRR = \frac{\sum_{i=1}^n C_{n-3,i}}{\sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^K \frac{C_{k,i}}{70 \cdot RfD_k}}$$

Où

- $C_{n-3,i}$ correspond à la concentration en EPA+DHA (mg/kg de poisson) du poisson i ;
- $C_{k,i}$ correspond à la concentration en contaminant k (mg/kg de poisson) du poisson i ;
- CSF_k correspond au *cancer slope factor* [(mg/kg/j)⁻¹] du contaminant k ;
- RfD_k correspond à la VTR [mg/(kg.j)] du contaminant k ;
- 70 correspond au poids corporel moyen des consommateurs adultes (kg).

La consommation (g de poisson/j) n'apparaît pas dans les ratios, car il est considéré qu'elle a le même impact sur le bénéfice et le risque, et que l'apport d'EPA+DHA comme l'apport de contaminant est proportionnel à la portion consommée et à la fréquence de consommation.

Les CSF utilisés correspondaient aux CSF de l'US-EPA, les VTR aux doses de référence de l'US-EPA. Ici, ce ne sont pas des consommations sans risque qui sont calculées, mais le bénéfice nutritionnel de la consommation par unité de risque. Le résultat est exprimé en apport d'EPA+DHA correspondant à la consommation permettant d'atteindre la VTR, ou le risque considéré comme acceptable. Cette approche s'appuie sur l'additivité des risques et tient compte cette fois de l'ensemble de la consommation de poissons. L'étude montre que la consommation de saumon d'élevage correspondant à un risque acceptable de cancer (1.10^{-5}) apporte quotidiennement 45 mg d'EPA+DHA, ou 100 mg d'EPA+DHA s'il s'agit de saumon sauvage, soit bien moins que la recommandation française de 500 mg/jour. En ce qui concerne le risque à seuil, la VTR critique (pour le contaminant limitant) est atteinte pour une consommation de saumon d'élevage apportant 900 mg d'EPA+DHA ou une consommation de saumon sauvage apportant 2500 mg d'EPA+DHA.

Toutes les approches multidimensionnelles, qui permettent de prendre en compte les apports et exposition à travers l'ensemble de l'alimentation, montrent donc une inadéquation entre les apports de nutriments (EPA+DHA, voire iode et vitamine D), trop faibles par rapport aux recommandations nutritionnelles, et une exposition aux contaminants (dioxines et PCB principalement) trop élevée. Il semblerait qu'une augmentation de la consommation de poissons permettant un apport suffisant d'EPA+DHA s'accompagne systématiquement d'une exposition aux dioxines et PCB trop élevée. Le méthylmercure quant à lui ne semble pas être préoccupant dans les populations étudiées, pour les espèces consommées, et sur la base de données réelles de consommation.

Relations dose-réponse

Les référentiels nutritionnels et toxicologiques peuvent être très protecteurs. Dans le cas des ANC, qui par définition permettent de couvrir les besoins de 97,5% de la population, leur couverture ne constitue pas nécessairement un but à atteindre mais plutôt un optimum pour chaque individu. Dans le cas des VTR, il peut être observé au sein d'une population un pourcentage non négligeable de dépassements de la VTR, sans pour autant qu'ait été observée une association avec un effet sanitaire.

C'est pour cette raison que les évaluateurs du risque préconisent que soient menées des études d'imprégnation des populations, dans la mesure du possible. Une alternative à l'utilisation des référentiels nutritionnels et toxicologiques peut être l'utilisation des relations dose-réponse, quand elles existent. Lorsque l'étude d'une ou plusieurs cohortes est suffisamment robuste pour déterminer la probabilité de survenue d'un événement ou effet critique (une pathologie par exemple) liée à la consommation d'un aliment, cette probabilité peut être combinée à une exposition ou un apport. L'impact d'un contaminant ou d'un nutriment dans une population peut ainsi être défini, et donc le risque ou le bénéfice lié à la consommation. Cela implique de disposer des relations doses-réponses pour les nutriments ou contaminants étudiés, applicables à la population étudiée, en plus de données

d'apports et/ou d'exposition. La question de l'extrapolation à la population générale se pose également.

Ginsberg et Toal, en 2009, ont modélisé l'effet de la consommation d'une ou plusieurs portions de poisson, en utilisant des relations doses-réponses issues de la bibliographie, pour les relations liant oméga 3 et mercure (Hg) à la santé cardiovasculaire et au neuro-développement (Ginsberg and Toal, 2009). Deux équations ont été utilisées afin d'évaluer le ratio risque/bénéfice, s'appuyant sur des relations doses-réponses sur la mortalité cardiovasculaire (par maladie coronaire ou premier infarctus du myocarde) et sur une évaluation du développement neurosensoriel chez des enfants de 6 mois :

- Maladies coronaires chez l'adulte :

$$\frac{\text{Risque net}}{\text{Bénéfice net}} = [(\text{omega-3 mg/repas}) \times (\text{nb repas/sem}) \times (1 \text{ sem}/7 \text{ jours}) \times (14.6\% \text{ réduction du risque}/100 \text{ mg omega-3})] - [(\text{modification de Hg capillaire/repas de poisson}) \times (\text{nb repas/sem})] - (0.51 \text{ ppm Hg capillaire}) \times (23\% \text{ augmentation du risque}/1 \text{ ppm Hg capillaire})$$

- Développement neurosensoriel chez l'enfant :

$$\frac{\text{Risque net}}{\text{Bénéfice net}} = [(\text{omega-3 mg/repas}) \times (\text{nb repas/sem}) \times (1 \text{ sem}/7 \text{ jours}) \times (2 \text{ points VRM } /100 \text{ mg omega-3})] - [(\text{modification de Hg capillaire/repas de poisson}) \times (\text{nb repas/sem}) \times (7.5 \text{ VRM points}/1 \text{ ppm Hg capillaire})]$$

Où VRM = *visual recognition memory* (test de mémorisation visuelle).

Un ratio supérieur à 1 indique que le bénéfice est supérieur au risque. A partir de ces analyses, les poissons ont été classés par catégorie de consommation afin d'orienter les recommandations, pour le risque ou le bénéfice cardiovasculaire ou le neuro-développement : « consommation illimitée » (hareng, saumon, truite, lieu, limande, crevette...), « 2 fois par semaine » (thon blanc en conserve...), « une fois par semaine » (thon rouge) et « ne pas consommer » (espadon, requin). Dans cette dernière catégorie on trouve les espèces pour lesquelles le ratio risque/bénéfice est toujours défavorable, quelle que soit la consommation testée.

Dans cette étude, les auteurs n'ont pas considéré d'effet plateau pour le bénéfice cardiovasculaire lié aux omégas 3 (Mozaffarian and Rimm, 2006). De plus les effets calculés à partir des doses-réponses étaient utilisés de façon additive sans prise en compte des interactions possibles. Une fois encore, les simulations ont été faites par espèce de poisson, et il n'a pas été considéré qu'une autre espèce ne puisse être consommée en même temps.

Une dernière méthode, utilisant les relations doses-réponses, repose sur le calcul d'indices tirés de l'économie de la médecine, de type DALY (*Disability adjusted life years*) ou QALY (*Quality adjusted*

life years), qui intègrent à la fois les risques et les bénéfices dans des scénarii à comparer (Gold et al., 2002). Traditionnellement, le QALY a été utilisé pour comparer différents traitements de santé publique pour des populations relativement petites, alors que le DALY a plus couramment été utilisé pour comparer l'impact de pathologies sur une population à l'échelle nationale ou régionale.

En 2005, Cohen et al ont proposé un travail s'appuyant sur le QALY, un score mathématique permettant d'exprimer le risque et le bénéfice dans une unité commune (Cohen et al., 2005). Cet indice évalue le nombre d'années restant ou qui restaient à vivre en bonne santé, pour une population, pondéré par un indice de qualité de vie selon l'équation suivante :

$$QALY = \sum_i (T_i * q_i)$$

Où

- T_i correspond au nombre d'années restant à vivre (cas non mortels), ou qui restaient à vivre en bonne santé (cas mortels), pour la population considérée ;
- q_i correspond à l'indice de qualité de vie : 1 correspondant à une santé optimale et 0 à la mort de l'individu.

Une étude française réalisée par Guével et al (2008) a appliqué le modèle de Cohen et al en 2008 et a montré que le passage d'une consommation « modérée » de poisson (3 fois par semaine) à une consommation élevée (11 fois par semaine) avait un impact positif : le bénéfice était supérieur au risque. Seuls les bénéfices cardiovasculaire et neurocomportemental liés au DHA, et l'impact du méthylmercure sur le développement cérébral étaient pris en compte dans cette étude, et trois différents modèles de relations doses-réponses pour le bénéfice cardiovasculaire étaient testés, conduisant tous à la même conclusion (Guevel et al., 2008).

La méthode du QALY appliquée à l'analyse risque-bénéfice de la consommation alimentaire présente néanmoins des inconvénients. Elle repose sur la connaissance de la relation dose-réponse entre la consommation alimentaire, l'apport nutritionnel ou l'exposition, et un effet santé. Or ces relations sont difficiles à déterminer et à exprimer de façon mathématique. De plus, lorsqu'elles sont disponibles dans la littérature, elles sont déterminées pour une catégorie de population bien identifiée, souvent des malades (rarement la population générale en bonne santé). Le problème de l'extrapolation à la population générale se pose alors. Outre ce problème méthodologique, se pose la question de la validité des scores attribués à l'état de santé considéré ou la pathologie. Issus de l'économie de la médecine, ces pondérations reposent sur des considérations à la fois médicales, sociales et économiques, les rendant subjectifs (Mittmann et al., 1999) et éthiquement contestables.

L'utilisation des relations dose-réponse est également envisageable à partir non plus de données d'apport/exposition, mais à partir de données biologiques. On ne considère plus la dose ingérée entraînant un effet santé, mais la concentration d'un biomarqueur associé à un effet santé. Là encore, l'approche nécessite de disposer de nombreuses données sur la population, de données

épidémiologiques suffisamment robustes pour obtenir des relations doses-réponses, et nécessite des données sur le ou les biomarqueurs considérés, impliquant qu'ils aient été identifiés.

2.4.3 Quelles solutions ?

Pour la détermination de consommations optimales, le propos n'est pas simplement d'obtenir un bénéfice supérieur au risque, mais un bénéfice maximal avec un risque dit acceptable. Il est donc clair que les approches de type unilatérales, focalisées sur le risque seul (nutritionnel ou chimique) ou sur le bénéfice nutritionnel seul, ne sont pas appropriées.

Par ailleurs, les analyses comparant les risques liés au méthylmercure seul versus les bénéfices liés aux AGPI-LC n-3 seuls, en population générale, montrent systématiquement un bénéfice supérieur au risque, qu'il s'agisse des effets neurocomportementaux (Cohen et al., 2005) ou cardiovasculaires (Rissanen et al., 2000). Ceci suggère que le méthylmercure atténue les effets des AGPI-LC n-3 sans les contrebalancer et impliquerait donc que la consommation de poissons ne présente pas de risque inacceptable.

Mais dès lors que les dioxines et PCB sont intégrés dans l'analyse, les conclusions en termes de consommations optimales changent. De nombreuses études sur le risque/bénéfice de la consommation de poissons montrent une impossibilité d'atteinte des recommandations nutritionnelles (AGPI-LC n-3, mais aussi vitamine D ou encore iode), tout en restant en-dessous des VTR fixées pour les contaminants lipophiles (dioxines et PCB). Ceci tient du fait que les scénarii envisagés simulent une augmentation de consommation de poissons gras, les plus riches en EPA+DHA mais aussi en dioxines et PCB.

Il apparaît donc nécessaire d'intégrer dans l'analyse un grand nombre de composants, contaminants comme nutriments.

Par ailleurs, ces études sur le risque/bénéfice s'appuient le plus souvent sur des données réelles de quantités totales de poissons consommés, mais souvent ne considèrent que quelques espèces ou groupes d'espèces, souvent « grasses » versus « maigres ». Or, considérer des groupes de poissons « gras » et « maigres » est insuffisant pour déterminer des consommations permettant de couvrir les recommandations nutritionnelles en EPA+DHA tout en restant en-dessous des VTR pour les dioxines et PCB (AFSSA, 2010f). Ce résultat est cohérent avec le fait que les études sur le risque dioxines+PCB versus le bénéfice EPA+DHA ne montrent pas de solution optimale. Domingo et al soulignent par ailleurs qu'il est difficile pour la population de suivre des recommandations d'ordre général sans qu'on précise les espèces à consommer ou non, la portion ou la fréquence de consommation (Domingo et al., 2007b).

Il convient donc de considérer non seulement les quantités de produits de la mer consommées, mais aussi la diversité des espèces consommées dans la population, avec leur variabilité de composition et de contamination.

Il a été montré qu'afin de réduire les éventuels risques de dépassement de la dose toxicologique du méthylmercure, des recommandations de réduction de consommation de poissons sont plus efficaces que tenter de réduire les niveaux réglementaires de contamination des poissons (Carrington et al., 2004, Crepet et al., 2005). Certains auteurs proposent ainsi de réduire la consommation de poissons chez les femmes enceintes, la population la plus sensible pour ce contaminant (Fok et al., 2007), ou de réduire la consommation de poissons riches en méthylmercure chez les femmes en âge de procréer sans réduire la consommation totale de poisson (Cohen et al., 2005). D'autres auteurs recommandent de préférer le poisson de rivière au poisson de mer (Fok et al., 2007). En 2006, Mozaffarian et Rimm (2006) ont dressé une revue des effets de la consommation de poisson, du méthylmercure et des dioxines et PCB sur la santé cardiovasculaire et neurologique. Ils proposent d'orienter les recommandations de consommation en fonction de la population cible. Ainsi les recommandations pourraient être différentes en fonction du bénéfice nutritionnel escompté ou de l'effet critique considéré dans le groupe ciblé (Mozaffarian and Rimm, 2006). Pour les femmes en âge de procréer par exemple, le neuro-développement du fœtus est le point critique. C'est donc l'effet bénéfique des AGPI-LC n-3 et les risques liés au méthylmercure et aux PCB totaux qui doivent être pris en compte en priorité. Pour les personnes plus âgées, le bénéfice cardiovasculaire doit être considéré, ainsi que la vitamine D pour le risque de fracture par exemple.

Afin de déterminer des consommations optimales de produits de la mer, il faut donc tenir compte :

- à la fois de l'ensemble du plus grand nombre possible de nutriments d'intérêt et de contaminants apportés ;
- des apports nutritionnels et de l'exposition de la population considérée, non seulement par les produits de la mer, mais aussi via le reste de son régime alimentaire ;
- des différentes espèces qui peuvent être consommées, de leur diversité en termes de composition et contamination ;
- de la ou les populations cibles, de leur sensibilité inégale vis-à-vis d'un contaminant et des bénéfices nutritionnels attendus différents en fonction de leur état physiologique au cours de la vie.

3 Hypothèses de travail, objectifs et méthode

Dans notre travail, l'hypothèse de départ est que la consommation de produits de la mer est globalement bénéfique, c'est-à-dire que les risques liés à cette consommation sont considérés acceptables par l'évaluateur, et que les bénéfices nutritionnels et santé sont optimaux.

L'objectif du travail est de déterminer dans quelles mesures et pour quelles quantités la consommation de poissons et autres produits de la mer entraîne un bénéfice optimal et un risque pouvant être considéré comme acceptable. Des propositions de consommation optimale pourront être faites, compatibles avec le fonctionnement de l'organisme et tenant compte des contaminants apportés par l'alimentation.

Dans un premier temps, les risques seuls liés à la consommation de produits de la mer seront étudiés au travers de deux exemples uniquement : le méthylmercure et l'arsenic. Dans l'absolu, l'ensemble des contaminants cités dans la synthèse bibliographique devrait être étudié, mais l'ampleur de la tâche dépasserait ici le cadre de travail de la thèse. La population d'étude sera une population de consommateurs réguliers de produits de la mer, voire de forts consommateurs, c'est-à-dire consommant des produits de la mer au moins deux fois par semaine, et donc suivant les recommandations « classiques » de consommation. Pour cela, les données de l'étude Calipso 2005-2006 seront principalement utilisées (Leblanc, 2006). Il sera déterminé, par l'analyse des consommations alimentaires – produits de la mer mais aussi le reste du régime – et de biomarqueurs d'exposition, si les consommations de cette population sont compatibles avec un niveau de risque satisfaisant d'un point de vue sanitaire et à partir de quel niveau elles ne le sont plus. Dans le cas du méthylmercure, la disponibilité de ces deux types de données, apports calculés et biomarqueurs, permettra de comparer les deux méthodes, d'interpréter les résultats de l'une au regard de l'autre, dans la mesure où, à l'heure actuelle, seuls les apports estimés sont utilisés lors des évaluations de risque conduites aux niveaux national et international. Dans le cas de l'arsenic, récemment réévalué par les instances internationales, il sera étudié dans quelles mesures la consommation hebdomadaire d'au moins deux portions de produits de la mer est susceptible d'impacter sur le risque lié à l'exposition à l'arsenic.

Dans un second temps seront étudiés les bénéfices nutritionnels et santé seuls liés à la consommation de poisson, en particulier de poissons gras, au sein de cette même population. Une première étape consistera en l'analyse de la relation entre la consommation de poisson et un biomarqueur de santé cardiovasculaire : la teneur en acides gras oméga 3 polyinsaturés à longue chaîne des hématies. Puis, les apports nutritionnels de la population seront décrits via le régime alimentaire complet afin d'évaluer la contribution de la consommation de produits de la mer aux apports nutritionnels, et afin d'identifier les nutriments d'intérêt à inclure dans une analyse risque/bénéfice.

Dans un troisième temps, une analyse conjointe des risques et des bénéfices sera proposée, faisant appel à une modélisation linéaire permettant de calculer, pour la population générale cette fois, la ou les consommation(s) des différentes espèces de produits de la mer permettant d'atteindre les

recommandations nutritionnelles, tout en restant en-deçà des valeurs toxicologiques de référence pour les contaminants retenus. Cette analyse tiendra donc compte :

- de l'ensemble des nutriments d'intérêt et des contaminants apportés ; ils seront sélectionnés dès lors qu'il aura été montré qu'ils pouvaient présenter un danger ou qu'ils sont connus pour être susceptibles de présenter un danger dans la population (insuffisance d'apport ou dépassement des valeurs toxicologiques de référence) ;
- des apports nutritionnels et des expositions aux contaminants de la population générale via le reste de son régime. Pour cela il sera fait appel aux données d'INCA2 ;
- des différentes espèces pouvant être consommées et de leur diversité en termes de composition et contamination pour les éléments sélectionnés.

Dans cette analyse risque-bénéfice et dans la discussion relative aux consommations optimales de produits de la mer, il a été choisi de ne pas tenir compte de la possibilité de la prise de compléments alimentaires supplémentaires pour l'atteinte des recommandations nutritionnelles. Seule l'alimentation générale est considérée ; il est postulé que l'alimentation courante est susceptible de répondre aux besoins nutritionnels de la population générale en bonne santé.

4 Etudes

Pour l'ensemble des études présentées ci-après, les protocoles ont été validés en 2004 par le Comité Consultatif de Protection des Personnes se prêtant à des Recherches Biomédicales du CHU Henri Mondor de Créteil. Tous les sujets ont reçu une information complète sur l'étude et ont signé un consentement éclairé avant leur inclusion dans l'étude.

Les études 1 à 4 correspondent à des travaux publiés (Annexe 5). Néanmoins, certains éléments présentés dans les résultats et en discussion ne correspondent pas aux publications, mais ont été adaptés compte tenu des nouveaux éléments disponibles dans la littérature et des évolutions dans les VTR depuis la publication des articles. Ces éléments sont présentés en italique dans les études.

Dans l'ensemble des études ci-après, et dans la discussion générale, on appellera forts consommateurs de produits de la mer des sujets consommant au moins deux fois par semaine des produits de la mer.

4.1 Etude 1. Evaluation de l'exposition au méthylmercure à partir de données d'exposition alimentaire et des biomarqueurs d'exposition

Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France: CALIPSO study. V Sirot, T Guérin, Y Mauraas, Hervé Garraud, JL Volatier, JC Leblanc. *Environmental Research* 107 (2008) 30–38 (Annexe 5).

L'objectif de cette première étude est de quantifier le risque lié à l'exposition au méthylmercure dans une population de forts consommateurs de produits de la mer, une population particulièrement à risque, et d'en déduire s'il y a un risque non négligeable dans la population générale.

4.1.1 Matériel et méthode

Sites d'étude et sujets

L'étude Calipso a été menée en 2004-05 dans 22 communes, réparties sur 4 sites côtiers (Figure 5) :

- Le Havre en Baie de Seine ;
- Lorient au sud de la Bretagne ;
- La Rochelle en Gironde ;
- Toulon au bord de la Méditerranée.

Des travaux de l'Observatoire des consommations alimentaires et du Centre de recherche pour l'étude et l'observation des conditions de vie ont montré que les forts consommateurs de produits de la mer se concentrent sur les côtes (OCA-CREDOC, 1996, Dufour and Volatier, 1998), en témoigne la plus forte proportion dans ces régions de commerces de détail de poissons (DGCCRF, 2002). Le nombre de personnes contactées de façon aléatoire entre octobre et décembre 2004 pour participer à l'étude s'élevait à 6379.

La représentativité a été assurée par la méthode de recrutement dite du « *random route* ». Un point de départ géographique était sélectionné de façon aléatoire et le recrutement était effectué au porte-à-porte, avec un passage de 5 portes minimum entre deux recrutements. La population féminine a été sur-représentée afin de collecter des données sur cette population critique vis-à-vis du risque lié au méthylmercure. Sur 6379 personnes contactées, 43% ont accepté de participer, soit 2768 personnes. Les 57% de sujets n'ayant pas été inclus dans l'étude comptent des personnes n'ayant pas donné suite au premier contact (refus de participer donc pas de prise de rendez-vous), absentes lors du rendez-vous fixé, ou ayant annulé par manque de temps ou d'intérêt pour l'étude, ou sans indiquer de

raison particulière. Les raisons de refus de participation à l'étude dès le premier contact étaient principalement le « manque de temps », la « durée trop longue du questionnaire » ou « l'incapacité de répondre ».

Les critères d'inclusion à l'étude étaient les suivants :

- être âgé de 18 ans au moins ;
- consommer des produits de la mer au moins 2 fois par semaine ;
- être résident permanent sur l'un des quatre sites de l'étude.

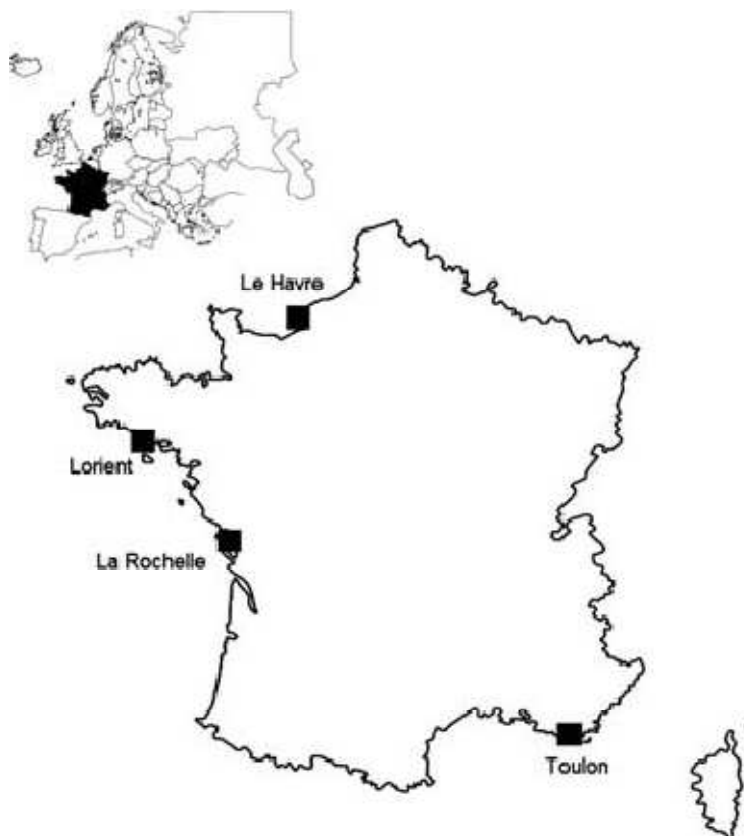


Figure 5. Sites de l'étude Calipso

Dans les foyers éligibles, la personne dont le prénom était le premier dans l'ordre alphabétique a été sélectionnée, si elle était présente. Si pas, la seconde personne était sélectionnée et ainsi de suite.

Les individus se déclarant suivis médicalement pour une exposition au mercure ont été exclus de l'étude. Les femmes en âges de procréer (18-44 ans) ont été surreprésentées dans l'échantillon compte tenu de la toxicité fœtale du méthylmercure. Mille onze sujets étaient éligibles, soit environ 250 par site. Sur les 1757 (66%) non-éligibles, les critères de non-éligibilité se répartissaient comme suit : 24% ne consommaient pas du tout de produits de la mer ; 34% consommaient des produits de la mer moins de 2 fois par semaine ; 2% ne résidaient pas de façon permanente sur le site ; 3% avaient moins de 18 ans. Le détail concernant le recrutement des sujets de l'étude est décrit dans la littérature (Bemrah et al., 2009) et dans le rapport de l'étude CALIPSO (Leblanc, 2006).

Quinze sujets ont été exclus en raison de leurs consommations alimentaires. D'après leurs déclarations, ils consommaient moins de 200 g de produits de la mer par semaine (équivalent à 29 g/j,

soit moins d'une portion par semaine), ou plus de 5 kg en moyenne (soit 714 g/j, ce qui est irréaliste). Ainsi, 996 adultes consommateurs réguliers de produits de la mer ont été recrutés (Tableau 4).

Tableau 4. Caractéristiques de la population d'étude (n=996) et des sujets ayant subi le prélèvement sanguin (n=385)

	Ensemble des sujets		Sujets prélevés	
	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes
n	283	713	103	282
Site, n (%)				
Le Havre	47 (17%)	202 (28%)	17 (17%)	64 (23%)
Lorient	64 (23%)	183 (26%)	24 (23%)	91 (32%)
La Rochelle	103 (36%)	145 (20%)	42 (41%)	55 (19%)
Toulon	69 (24%)	183 (26%)	20 (19%)	72 (26%)
Age, années*	45 ± 16	45 ± 16	45 ± 13	46 ± 14
Indice de masse corporelle, kg/m ² *	25,2 ± 6,4	23,8 ± 4,3	25,0 ± 3,2	23,6 ± 4,1
Statut tabagique, n (%)				
Non fumeur	104 (37%)	412 (58%)	37 (36%)	81 (29%)
Ancien fumeur	61 (21%)	97 (13%)	27 (26%)	44 (15%)
Fumeur	118 (42%)	204 (29%)	39 (38%)	157 (56%)
Consommations de produits de la mer				
Poissons	633 ± 441	637 ± 497	643 ± 399	652 ± 475
Mollusques et crustacés	251 ± 182	266 ± 271	254 ± 153	282 ± 286

*Moyenne ± écart-type.

Recueil des consommations alimentaires

Les sujets ont été interrogés en face-à-face afin de remplir un questionnaire de fréquence (QF) alimentaire. Pour 80 produits de la mer (poissons, mollusques, crustacés, échinodermes et plats à base de produits de la mer), les consommations ont été évaluées en multipliant la fréquence de consommation déclarée par la portion habituellement consommée, estimée à partir du cahier photographique de l'étude INCA1 (LeMoullec et al., 1996). La répartition des fréquences de consommation de produits de la mer des sujets recrutés est présentée sur la Figure 6. Le face-à-face a également permis de collecter les caractéristiques socio-démographiques des interviewés (âge, sexe, poids, taille, statut tabagique, etc.).

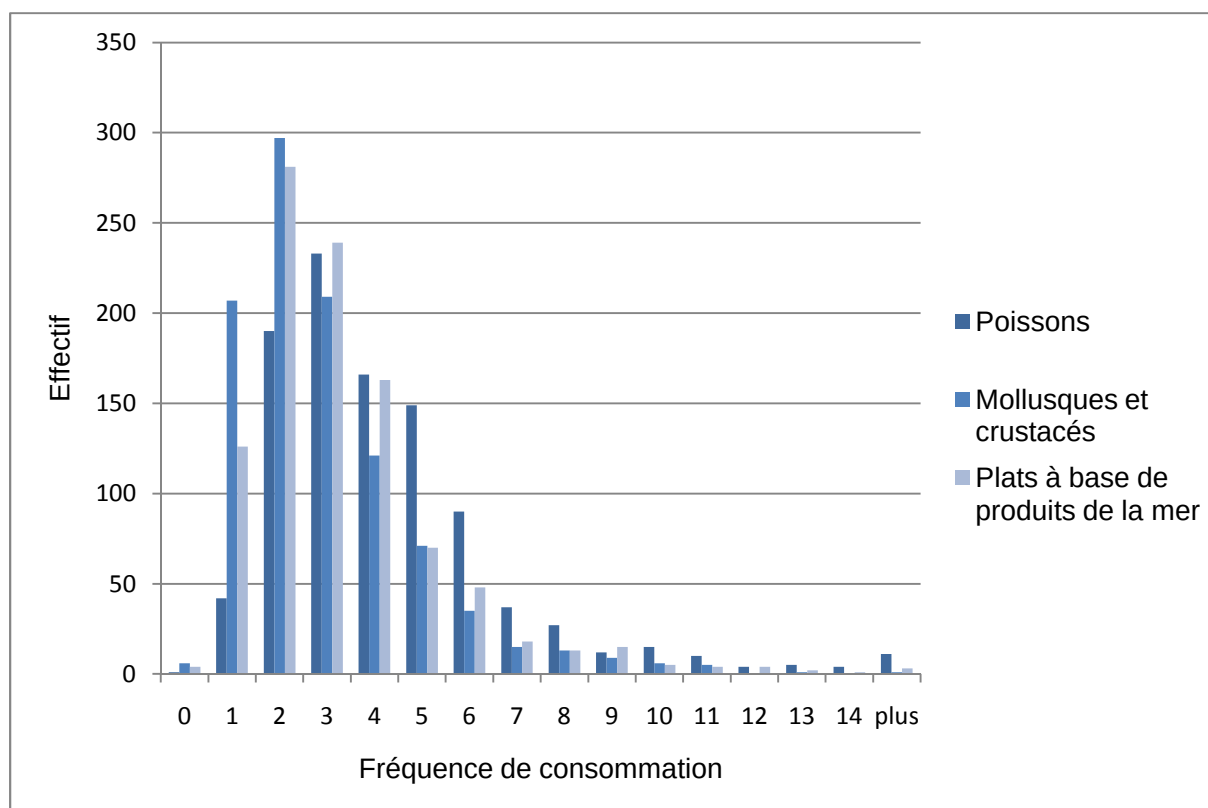


Figure 6 : Répartition des fréquences de consommation des 996 sujets

Echantillonnage alimentaire

Afin d'estimer l'apport de méthylmercure, dont la principale source alimentaire est le poisson (WHO, 1990, JECFA, 2004), un échantillonnage a été réalisé localement sur chaque site entre janvier et avril 2005. Cet échantillonnage, qui s'appuie sur une méthodologie standardisée de type étude de l'alimentation totale (Leblanc et al., 2005), recommandée au niveau international par l'OMS (USFDA/WHO, 1999, ANFZA/WHO/FAO, 2002, INRA/WHO, 2004), couvrait 88 à 100% de la consommation totale de produits de la mer (selon le site et le type de produits). Cent cinquante-neuf échantillons composites ont été collectés et analysés : poissons frais et surgelés, mollusques, crustacés, conserves de produits de la mer, poissons fumés et plats préparés à base de produits de la mer. Chaque échantillon était composé de produits individuels de la même espèce, représentatifs des consommations des individus, mais aussi de leurs modes d'achat : lieux d'achat, mode de conservation, origine des produits, parts de marché des différentes marques. La stratégie d'échantillonnage et de préparation des échantillons est décrite dans Sirot et al., 2008 (Sirot et al., 2008b).

Analyse des échantillons alimentaires

Les échantillons alimentaires ont été préparés et analysés selon la norme EN 13804:2002.

A chaque échantillon (250 mg poids sec) ont été ajoutés 50 µL d'une solution de méthylmercure marqué au Me^{202}Hg et 50 µL d'une solution de mercure inorganique marqué à 0,1 µg $\text{In}^{199}\text{Hg}/\text{mL}$ (Monperrus et al., 2003, Monperrus et al., 2004). L'extraction des composés du mercure a été réalisée par 3,5 mL d'hydroxyde d'ammonium tétraméthyl à 25°C. Chaque échantillon a ensuite été irradié sous champ micro-ondes (4 min, 20 W, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France). La dérivation des composés du mercure a été réalisée sur 2 mL d'extrait, auxquels ont été ajoutés 5 mL d'eau ultrapure, 1,2 mL d'acide acétique, 5 mL de tampon acétate (pH 3,9), 1 mL d'hexane et 1 mL de solution de boropropylborate de sodium à 1%. La solution a été agitée manuellement puis centrifugée (3000 tours/min, 5 min). La phase organique du surnageant est prélevée pour injection en couplage chromatographie en phase gazeuse, spectrométrie de masse à plasma induit (GC-ICP-MS : 60°C, 1 min ; 60°C-250°C à 40°C/min ; 250°C, 1 min). La quantification a été réalisée par dilution isotopique (Centeno et al., 2004, Monperrus et al., 2005, Rivier et al., 2005). Un matériau de référence certifié (DORM-2 : muscle de roussette, Promochem, Molsheim, France), a été analysé afin de valider la méthode, 16 répliques ont été réalisées (deux par série d'analyses). La valeur obtenue était de $4,235 \pm 0,234$ µg MeHg/g pour une valeur certifiée de $4,159 \pm 0,298$ µg/g, avec un taux de recouvrement de 102%.

Collecte et analyse des échantillons sanguins

Il a été proposé à l'ensemble des 996 sujets de participer au volet biologique de l'étude, consistant en un prélèvement sanguin, moins d'un mois après l'interview en face à face. Cinquante-trois pourcents ont refusé ce prélèvement par peur des piqûres (40%), manque de temps ou désintérêt (13%), pour cause de suivi médical (10%), maladie (2%), grossesse (1%) ou autre raison personnelle. Sur les 477 sujets ayant accepté le prélèvement, 17% se sont désistés. Un échantillon de sang total a donc été prélevé sur la veine antécubitale de 385 sujets volontaires (Tableau 4), dans des tubes héparinés (contamination par les métaux contrôlée). Les échantillons ont été congelés à -25°C jusqu'à l'analyse. A chaque échantillon (250 µL) ont été ajoutés 50 µL d'une solution de méthylmercure marqué au Me^{202}Hg à 5ng/mL, et 50 µL d'une solution de mercure inorganique marqué au In^{199}Hg à 2 ng/mL (McSheely et al., 2006). Le méthylmercure a été extrait à l'aide de 5 mL d'acide nitrique 6N. Les échantillons ont été placés dans un bac à ultrasons pendant 1h puis centrifugés (3 500 tours/min, 5 min). La dérivation des composés du mercure a été réalisée sur 3 mL d'extrait auxquels ont été ajoutés 13 mL d'eau ultrapure, 2 mL d'ammoniac, 5 mL de tampon acétate (pH 3,9), 1,5 mL d'hexane et 1 mL de solution de boropropylborate de sodium à 1%. La phase organique a été mesurée par ICP-MS (60°C, 1min ; 60-250°C à 40°C/min ; 250°C, 1 min). La quantification a été réalisée par dilution isotopique. Les limites de quantification (LOQ) et de détection (LOD) étaient, respectivement, 1,0 µg/L et 0,3 µg/L. Etant donné qu'aucun matériau de référence certifié n'était disponible pour la matrice sanguine, des blancs ont été inclus dans l'analyse pour assurer le contrôle qualité, ainsi que des échantillons de concentration connue (calibration $r^2 < 0,995$, drift < 20%) et des échantillons standards dopés (EN 13804: 2002). De plus, certaines analyses ont été doublées. Toutes les répliques se trouvaient dans l'intervalle de confiance estimé par le coefficient de reproductibilité ($\text{CV}_R = 37\%$, $n = 12$).

Calcul des expositions et analyses statistiques

Quatre groupes de population ont été distingués : les hommes de 18 à 64 ans, les femmes de 18 à 64 ans, les femmes en âge de procréer (18-44 ans), et les sujets âgés (65 ans et plus).

A partir des données du questionnaire de fréquence, l'exposition hebdomadaire au méthylmercure (E_{QF}) a été calculée pour chaque individu selon la formule suivante :

$$E_{QF} = \frac{\sum_i (C_{i,j} \times Co_{i,j})}{PC}$$

Où

- E_{QF} est l'exposition au méthylmercure ($\mu\text{g/kg pc/jour}$) ;
- $C_{i,j}$ est la consommation de l'espèce i par l'individu considéré, issue du questionnaire de fréquence (g/sem) ;
- $Co_{i,j}$ est la concentration en méthylmercure de l'espèce i échantillonnée sur le site de résidence de l'individu, ou la moyenne des autres sites si l'espèce n'a pas été échantillonnée ($\mu\text{g/g}$ poids frais) ;
- PC est le poids corporel de l'individu (kg).

Deux des concentrations sanguines en méthylmercure (soit 0,5% des résultats) étaient inférieurs à la LOD, et 26 (6,7%) étaient inférieurs à la LOQ. Ils ont été estimés par $\frac{1}{2}$ LOD et $\frac{1}{2}$ LOQ, respectivement.

Les sujets de l'étude ayant été recrutés pour leur consommation régulière de produits de la mer, il a été considéré que leur apport de méthylmercure était stable.

Ainsi le modèle pharmacocinétique à un compartiment (MPC) reliant l'apport journalier de méthylmercure avec sa concentration sanguine, utilisé par les instances internationales (WHO, 1990, NRC, 2000, JECFA, 2004), a été utilisé afin de calculer l'exposition au méthylmercure à partir des données sanguines (E_{MPC}) :

$$E_{MPC} = \frac{C \times b \times V}{A \times f \times PC}, \text{ où}$$

- E_{MPC} est l'exposition au méthylmercure ($\mu\text{g/kg pc/jour}$) ;
- C est la concentration sanguine en méthylmercure (mg/l) ;
- b est la constante d'élimination (0,014/jour) ;
- V est le volume sanguin (8% du poids corporel pour un homme, 7% pour une femme, et 9% pour une femme enceinte) ;
- A est la fraction d'absorption (0,95) ;
- f est la constante de distribution (0,05) ;
- PC est le poids corporel de l'individu (kg).

Cette exposition E_{MPC} calculée a été comparée à E_{QF} afin de comparer les deux méthodes d'évaluation de l'exposition : l'approche utilisant les biomarqueurs d'exposition et l'approche utilisant les données de consommation et de contamination des produits achetés localement.

Le sous-groupe de volontaires a été comparé au reste de la population pour les variables âge, IMC, consommation totale de poisson et consommation totale de mollusques et crustacés, statut tabagique et la répartition entre sites et les différents par un test de Student pour les variables quantitatives et un test du Chi² pour les variables catégorielles.

Les concentrations en méthylmercure des poissons prédateurs et non-prédateurs ont été comparées à l'aide du test de Student. Les données d'exposition et les concentrations sanguines de méthylmercure (normalisées) ont été comparées entre sous-groupes de population par des tests de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Les analyses statistiques ont été réalisées sur SAS.7 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

4.1.2 Résultats

Contamination des produits de la mer par le méthylmercure

En considérant que 70 à 100% du mercure total est sous forme de méthylmercure dans les produits de la mer, les concentrations présentées (Tableau 5) sont du même ordre de grandeur que les données des plans de surveillance et de contrôle de l'Administration (DGAL, plans 2004-2006), et ce pour toutes les espèces. La concentration en méthylmercure des poissons prédateurs est significativement supérieure à celle des non-prédateurs ($P < 0,0001$, non présenté), avec de plus fortes concentrations pour l'espadon, l'empereur, le thon et l'anguille.

Tableau 5. Teneurs moyennes en méthylmercure (MeHg) des produits de la mer ($\mu\text{g/g}$ poids frais)

Produits	n*	Teneur en MeHg
Poissons		
Anchois conserve (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	4	0,016
Anchois frais (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	1	0,020
Anguille (<i>Anguilla anguilla</i>)	4	0,315
Bar ou loup (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	4	0,149
Baudroie ou lotte (<i>Lophius piscatorius</i> , <i>Lophius budegassa</i>)	4	0,131
Cabillaud (<i>Gadus morhua</i>)	4	0,059
Carrelet, plie (<i>Pleuronectes platessa</i> , <i>Glyptocephalus cynoglossus</i> , <i>Glyptocephalus cynoglossus</i>)	2	0,059
Colin ou lieu noir (<i>Pollachius virens</i>)	4	0,041
Dorade (<i>Spondyliosoma cantharus</i> , <i>Sparus aurata</i> , <i>Pagellus bogaraveo</i>)	4	0,098
Eglefin (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	2	0,103
Empereur (<i>Hoplostethus atlanticus</i>)	3	0,574
Espadon (<i>Xiphias gladius</i>)	4	0,945
Flétan (<i>Hippoglossus hippoglossus</i> , <i>Reinhardtius hippoglossoides</i> , <i>Reinhardtius hippoglossoides</i>)	4	0,082
Grenadier (<i>Coryphaenoides rupestris</i>)	4	0,112
Grondin (<i>Trigla lucerna</i> , <i>Eutrigla gurnardus</i> , <i>Aspitrigla cuculus</i>)	1	0,143
Haddock fumé (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	4	0,010
Hareng fumé (<i>Clupea harengus</i>)	4	0,037
Julienne (<i>Molva molva</i> , <i>Molva dypterygia dypterygia</i> , <i>Molva dypterygia dypterygia</i>)	4	0,305
Lieu jaune (<i>Pollachius pollachius</i>)	3	0,083
Limande (<i>Limanda limanda</i> , <i>Microstomus kitt</i>)	4	0,098
Maquereau fumé (<i>Scomber scombrus</i>)	4	0,042
Maquereau conserve (<i>Scomber scombrus</i>)	4	0,027
Maquereau frais (<i>Scomber scombrus</i>)	4	0,073

Produits	n*	Teneur en MeHg
Merlan (<i>Merlangius merlangus</i> , <i>Micromesistius poutassou</i>)	4	0,170
Merlu (<i>Merluccius merluccius</i>)	4	0,157
Pilchard (<i>Sardina pilchardus</i>)	4	0,021
Raie (<i>Raja clavata</i> , <i>Raja naevus</i> , <i>Raja circularis</i>)	4	0,097
Rascasse (<i>Scorpaena porcus</i> , <i>Scorpaena scrofa</i> , <i>Helicolenus dactylopterus</i>)	1	0,196
Rouget (<i>Mullus barbatus</i> , <i>Mullus surmuletus</i>)	3	0,130
Roussette ou saumonette (<i>Scyliorhinus canicula</i> , <i>Scyliorhinus stellaris</i>)	4	0,232
Saint-Pierre (<i>Zeus faber</i>)	2	0,092
Sardine conserve (<i>Sardina pilchardus</i>)	4	0,023
Sardine fraîche (<i>Sardina pilchardus</i>)	4	0,099
Saumon frais (<i>Salmo salar</i>)	4	0,038
Saumon fumé (<i>Salmo salar</i>)	4	0,037
Sole (<i>Solea solea</i>)	4	0,127
Tacaud, gade (<i>Trisopterus luscus</i> , <i>Trisopterus minutus capelanus</i> , <i>Trisopterus minutus capelanus</i>)	1	0,158
Thon conserve (<i>Thunnus alalunga</i> , <i>Euthynnus pelamis</i>)	4	0,210
Thon frais (<i>Thunnus thynnus</i>)	4	0,330
Mollusques et crustacés		
Araignée de mer (<i>Maia squinado</i>)	1	0,036
Bigorneau ou vigneau (<i>Littorina littorea</i>)	3	0,009
Bulot ou buccin (<i>Buccinum undatum</i>)	3	0,034
Calmar, encornet ou chipiron (<i>Loligo vulgaris</i>)	4	0,056
Coque, rigadeau (<i>Cerastoderma edule</i>)	2	0,016
Coquille St-Jacques (<i>Pecten maximus</i>)	1	0,068
Crabe conserve (<i>Cancer pagurus</i>)	4	0,136
Crabe frais (<i>Cancer pagurus</i>)	3	0,175
Crevette, bouquet, gambas (<i>Palaemon serratus</i> , <i>Crangon crangon</i>)	4	0,031
Etrille (<i>Portunus puber</i>)	2	0,070
Homard (<i>Homarus gammarus</i>)	1	0,092
Huitre (<i>Crassostea gigas</i>)	4	0,007
Langoustine (<i>Nephrops norvegicus</i>)	3	0,087
Moule (<i>Mytilus edulis</i>)	4	0,038
Oursin (<i>Paracentrotus lividus</i>)	1	0,003
Pétoncle (<i>Chlamys varia</i>)	1	0,007
Poulpe (<i>Octopus vulgaris</i>)	1	0,219
Seiche (<i>Sepia officinalis</i>)	2	0,049
Plats à base de produits de la mer		
Paella	4	0,000
Soupe de poissons	4	0,007
Surimi	4	0,018
Tarama	4	0,001

*Nombre d'échantillons composites, chacun étant constitué de 5 sous-échantillons de la même espèce.

Exposition au méthylmercure calculée à partir des données de consommation et de contamination (E_{QF})

L'exposition au méthylmercure calculée par le croisement des données de consommation et de contamination s'élève à $1,33 \pm 1,19$ µg/kg pc/sem pour les hommes (18-64 ans) et $1,56 \pm 1,19$ µg/kg pc/sem pour les femmes (18 à 64 ans) (Tableau 6). Avec une exposition du même ordre de grandeur pour les sujets âgés et les femmes en âge de procréer, il n'apparaît pas de différence significative entre les différents groupes de population.

Si toutes les moyennes d'exposition sont inférieures à la DHTP du JECFA de 1,6 µg/kg pc/sem, plus d'un tiers des sujets (35%) ont une exposition dépassant cette DHTP. Parmi eux, un tiers (32%) sont des femmes en âge de procréer, la population la plus sensible. L'exposition de ces femmes au 95^e

percentile atteint 2,86 µg/kg pc/sem, soit 1,8 fois la DHTP. Cela correspond à 2,2 fois l'exposition des femmes en âge de procréer dans la population française générale (AFSSA, 2004).

Les produits dont la contribution à l'exposition apparaît être la plus forte sont le thon (19,2%, non présenté), le cabillaud (7,18%), la julienne ou lingue, la sole et le colin (environ 5%). Le poisson contribue à plus de 75% de l'apport total de méthylmercure. L'ensemble des produits de la mer contribuent à 94% de la DHTP, le thon seul représentant 18,1% de la DHTP.

Concentrations sanguines en méthylmercure

Les hommes et les femmes du sous-groupe de volontaires ayant subi le prélèvement sanguin ne sont pas statistiquement différents, respectivement, des hommes et femmes de l'ensemble de la population de l'étude pour les variables site, âge, IMC, consommation totale de poisson et consommation totale de mollusques et crustacés, et statut tabagique (Tableau 4), ni concernant l'exposition au MeHg calculée à partir des données de consommation (non présenté).

Les concentrations de méthylmercure sanguines reflètent l'exposition via l'ensemble du régime alimentaire et l'exposition environnementale autre qu'alimentaire (Tableau 7). Les femmes en âge de procréer constituent le groupe dont les concentrations sont les plus basses ($2,68 \pm 1,99$ µg/L), et les sujets âgés constituent le groupe présentant les concentrations les plus élevées ($4,85 \pm 3,15$ µg/L).

Les concentrations sanguines en méthylmercure sont corrélées à l'apport de méthylmercure estimé par le questionnaire de fréquence ($r=0,36$; $P<0,0001$). En outre, les concentrations sanguines sont également corrélées à la consommation de poissons prédateurs, les plus riches en méthylmercure ($r=0,26$; $P<0,0001$).

Exposition au méthylmercure calculée à partir des concentrations sanguines (E_{MPC})

L'exposition moyenne calculée avec le modèle pharmacocinétique, à partir des données sanguines, s'élève à $0,65 \pm 0,64$ µg/kg pc/sem pour la population hors femmes en âge de procréer, et à $0,39 \pm 0,29$ µg/kg pc/sem pour les femmes en âge de procréer, ce qui est inférieur à la DHTP du JECFA.

La moyenne des ratios individuels entre les deux expositions, E_{QF} et E_{MPC} , est de 4,3 avec un minimum à 0,2 et un 95^e percentile de 14. Plus la concentration sanguine est élevée, plus le ratio est bas et proche de 1 (Figure 7).

Tableau 6. Exposition au méthylmercure (MeHg) via la consommation de produits de la mer, et concentrations sanguines des 385 sujets.

		Hommes adultes (18-44 ans)	Femmes adultes (18-64 ans)	Femmes en âge de procréer (18-44 ans)	Sujets âgés (>64 ans)	Ensemble des sujets
n		93	254	133	38	385
Exposition au MeHg, µg/kg pc/sem	Moy ± ET*	1,33 ± 1,19 ^a	1,56 ± 1,19 ^a	1,33 ± 0,92	1,58 ± 0,98 ^a	1,51 ± 1,17
	P95	2,83	3,86	2,86	3,48	3,52
Concentration sanguine en MeHg, µg/L	Moy ± ET*	3,41 ± 2,25 ^a	3,68 ± 4,26 ^a	2,68 ± 1,99	4,85 ± 3,15 ^b	3,72 ± 3,77
	P95	7,17	8,63	5,58	10,7	8,65

*Moyenne ± écart-type. Sur une même ligne, deux lettres différentes indiquent que les valeurs sont significativement différentes ($P < 0,05$). Le test n'inclut pas les femmes en âge de procréer qui sont un sous-ensemble du groupe des femmes adultes.

Tableau 7. Exposition au méthylmercure calculée à l'aide du questionnaire de fréquence (E_{QF}), concentrations sanguines en méthylmercure et exposition calculée à l'aide du modèle pharmacocinétique (E_{MPC}).

	E_{QF} , µg/kg pc/sem			Concentration sanguines, µg/L		E_{MPC} , µg/kg pc/sem		
	Moy ± ET*	Sujets dépassant la DHTP, n (% et [IC _{95%}])	P95	Moy ± ET*	P95	Moy ± ET*	P95	Sujets dépassant la DHTP, n (% et [IC _{95%}])
Ensemble des sujets hors femmes en âge de procréer, n=253	1,61 ± 1,28	94 (37% [31 ; 43])	3,87	4,27 ± 4,34	9,91	0,65 ± 0,64	1,49	1 (0,4% [-0,04 ; 1,1])
Femmes en âge de procréer (18- 44 ans), n=132	1,33 ± 0,92	42 (32% [24 ; 40])	2,87	2,70 ± 2,00	5,61	0,39 ± 0,29	0,85	0 (0%)

*Moyenne ± écart-type.

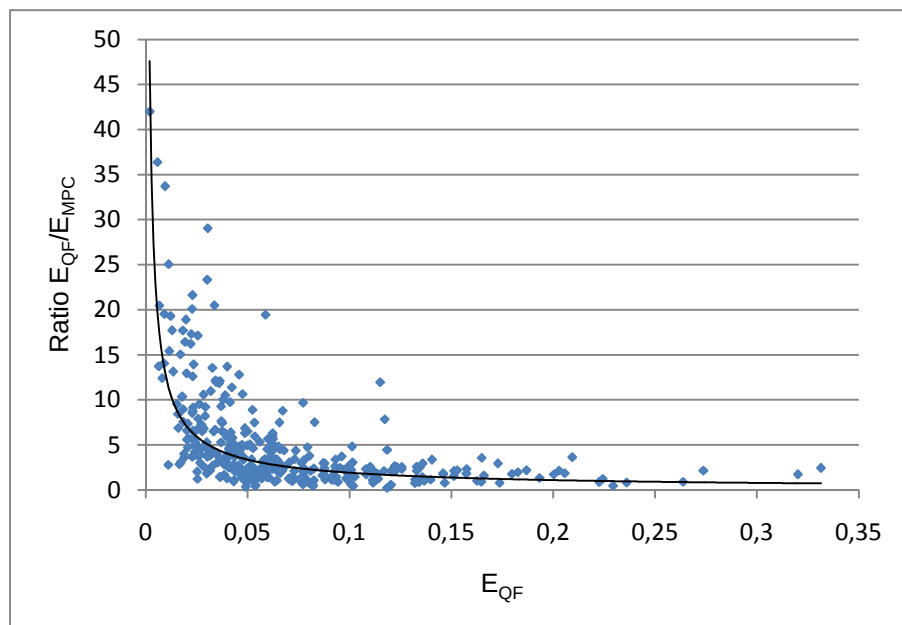


Figure 7. Ratio entre l'exposition calculée via le questionnaire de fréquence et l'exposition calculée avec le modèle pharmacocinétique (E_{QF}/E_{MPC}) en fonction de E_{QF} ($\mu\text{g/kg pc/j}$)

4.2 Etude 1, Analyses complémentaires. Risques liés à l'exposition au méthylmercure

4.2.1 Contexte et objectif

La moyenne des ratios individuels entre l'exposition au méthylmercure estimée par le questionnaire de fréquence et l'exposition calculée avec le modèle pharmacocinétique à partir des données sanguines (E_{QF}/E_{MPC}) s'élève à 4,3, avec un minimum à 0,2 et un 95^e percentile à 14. Plus l'exposition estimée par le questionnaire de fréquence est élevée et plus la concentration sanguine en méthylmercure est élevée, plus faible est le ratio, s'approchant de 1. Deux hypothèses sont avancées pour expliquer cela :

Les consommations déclarées par les plus forts consommateurs (aussi les individus les plus exposés) sont plus proches de la réalité, moins surestimées que celles des plus faibles consommateurs.

Si les consommations sont déclarées avec le même biais quelle que soit la consommation (même facteur de surestimation ou sous-estimation), le métabolisme du méthylmercure, son absorption, distribution dans le sang et excrétion, sont dépendantes de la quantité ingérée. Autrement dit, le modèle pharmacocinétique est plus adapté aux fortes expositions qu'aux faibles expositions.

Ces analyses complémentaires cherchent à valider ou invalider la première hypothèse, selon laquelle les forts consommateurs déclarent mieux leurs consommations que les faibles consommateurs.

Les questionnaires de fréquence sont connus pour surestimer les consommations alimentaires. La surestimation de la consommation des produits de la mer peut venir (i') d'une surestimation des fréquences de consommation, et/ou (ii') d'une surestimation des portions consommées. Seule la surestimation des fréquences de consommation est testée ici.

4.2.2 Matériel et méthode

La linéarité de l'association entre le méthylmercure dosé dans le sang ($MeHg_{SG}$) et la concentration en méthylmercure calculée à partir du modèle pharmacocinétique ($MeHg_{MPC}$) et de E_{QF} a été vérifiée par une régression linéaire multiple faisant appel à des splines cubiques restreints (Smith, 1979, Greenland, 1995, Desquilbet and Mariotti, 2010). La variable continue $MeHg_{MPC}$ a été incluse dans le modèle avec une fonction splines cubiques restreints à 3 nœuds (localisés aux 5^e, 50^e et 95^e percentiles).

Huit fréquences de consommation différentes étaient proposées dans le questionnaire de fréquence : une fois par jour et plus (soit 7 fois/sem et plus : fréquence = 7), 3 à 4 fois/sem (fréquence = 3,5), 2 fois/sem (fréquence = 2), 1 fois/sem (fréquence = 1), 2 à 3 fois/mois (fréquence = 0,625), 1 fois/mois (fréquence = 0,25), mois d'1 fois/mois (fréquence = 0,125), et jamais (fréquence = 0).

Cinq scénarii de correction des fréquences de consommation ont été testés (Tableau 8). Le premier scénario repose sur l'hypothèse selon laquelle toutes les fréquences de consommation sont surestimées de la même façon par tous les individus, quelle que soit l'espèce consommée. Les trois scénarii suivants s'appuient sur l'hypothèse selon laquelle seules les fréquences de consommation les plus faibles (c'est-à-dire les consommations très occasionnelles) sont surestimées. Le dernier scénario repose sur l'hypothèse selon laquelle les individus qui consomment le moins d'espèces surestiment plus leurs fréquences de consommation.

L'exposition de chacun des 385 sujets de l'étude 1 (voir 4.1) calculée par le questionnaire de fréquence (E_{QF}) a été réévaluée pour chaque scénario, avec une correction systématique des fréquences de consommation des produits de la mer. Le pourcentage de dépassement de la DHTP du JECFA a été calculé pour chaque scénario également. Le coefficient de corrélation entre les deux expositions (E_{QF} et E_{MPC}) ainsi que le ratio E_{QF}/E_{MPC} et la différence $E_{QF}-E_{MPC}$ ont été calculées.

Les analyses ont été réalisées sur SAS version 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Le risque de première espèce (alpha) considéré était de 5%.

4.2.3 Résultats

Les différents scénarii de correction des fréquences de consommation testés réduisent sensiblement la moyenne d' E_{QF} ainsi que sa médiane (Tableau 9). De plus, le nombre de dépassements de la DHTP est réduit jusqu'à 4% pour le scénario (iv).

L'ensemble des scénarii améliore le ratio E_{QF}/E_{MPC} tant médian que moyen. Il est réduit par rapport à la situation initiale, et est plus proche de 1. Les scénarii (ii), (iii) et (iv), pour lesquels seules les fréquences de consommation les plus faibles ont été diminuées, semblent les meilleurs, avec des ratios médians de 1,34, 1,17 et 0,71, respectivement. La médiane de la différence entre E_{QF} et E_{MPC} est également réduite et tend vers 0 pour les scénarii de correction (ii) et (iv), et la moyenne par les scénarii (ii) et (iv).

Cependant, la corrélation entre E_{QF} et E_{MPC} , bien que toujours significative, est réduite par ces mêmes scénarii (ii), (iii) et (iv) par rapport à la situation initiale, ne permettant donc pas de conclure que ces scénarii permettent de corriger E_{QF} et d'estimer l'exposition au plus proche de la réalité.

Le scénario (v) n'améliore quant à lui ni la différence $E_{QF}-E_{MPC}$, ni la corrélation entre les deux expositions. Il n'est donc pas plus approprié.

Tableau 8. Scenarii de corrections de fréquences de consommation

Scenarii	Hypothèses	Corrections	Fréquences corrigées
Scenario (i)	Tous les individus surestiment leurs fréquences de consommation de la même façon, quelle que soit l'espèce	Les fréquences de consommation sont divisées par 1,5	$7 \rightarrow 4,67$ $3,5 \rightarrow 2,33$ $2 \rightarrow 1,33$ $1 \rightarrow 0,67$ $0,625 \rightarrow 0,42$ $0,25 \rightarrow 0,17$ $0,125 \rightarrow 0,08$
Scenario (ii)	Seules les consommations très occasionnelles sont surestimées	Les 3 fréquences de consommation les plus faibles sont réduites à la fréquence inférieure	$0,625 \rightarrow 0,25$ $0,25 \rightarrow 0,125$ $0,125 \rightarrow 0$
Scenario (iii)	Seules les consommations très occasionnelles sont surestimées	Les 3 fréquences de consommation les plus faibles sont réduites (réduction plus forte / scenario (i))	$0,625 \rightarrow 0,2$ $0,25 \rightarrow 0,1$ $0,125 \rightarrow 0$
Scenario (iv)	Seules les consommations très occasionnelles sont surestimées	Les 4 fréquences de consommation les plus faibles sont réduites (réduction plus forte / scenarii (i) et (ii))	$1 \rightarrow 0,5$ $0,625 \rightarrow 0,1$ $0,25 \rightarrow 0,04$ $0,125 \rightarrow 0$
Scenario (v)	Les individus consommant le moins d'espèces surestiment plus leurs fréquences de consommation	Application des corrections du scenario (iv) aux individus du 1 ^{er} quartile de nb d'espèces consommées (<20 espèces différentes) et des corrections du scenario (iii) au 2 nd quartile (entre 20 et 25 espèces différentes)	Si nb espèces < 20 : $0,625 \rightarrow 0,2$ $0,25 \rightarrow 0,1$ $0,125 \rightarrow 0$ Si $19 < \text{nb espèces} < 25$: $1 \rightarrow 0,5$ $0,625 \rightarrow 0,1$ $0,25 \rightarrow 0,04$ $0,125 \rightarrow 0$

Tableau 9. Résultats des différents scénarii de corrections des fréquences de consommation sur les calculs d'exposition au méthylmercure

		Situation initiale	Scénario (i)	Scénario (ii)	Scénario (iii)	Scénario (iv)	Scénario (v)
E_{QF} , µg/kg pc/j	Médiane	0,18	0,11	0,08	0,06	0,04	0,12
	Moy ± ET*	0,21 ± 0,16	0,14 ± 0,11	0,11 ± 0,12	0,10 ± 0,12	0,07 ± 0,08	0,16 ± 0,17
Dépassements de la DHTP, %		35%	13%	11%	10%	4%	25%
$r (E_{QF}/E_{MPC})$		0,36 ($P<0,0001$)	0,36 ($P<0,0001$)	0,28 ($P<0,0001$)	0,26 ($P<0,0001$)	0,22 ($P<0,0001$)	0,36 ($P<0,0001$)
Ratio E_{QF}/E_{MPC}	Médiane	2,83	1,88	1,34	1,17	0,71	2,05
	Moy ± ET	4,30 ± 5,43	3,15 ± 3,58	2,42 ± 3,27	2,19 ± 3,08	1,45 ± 2,04	3,49 ± 4,72
Différence $E_{QF}-E_{MPC}$, µg/kg pc/j	Médiane	0,11	2,72	0,02	0,01	-0,01	3,18
	Moy ± ET	0,15 ± 0,16	3,70 ± 5,65	0,04 ± 0,12	0,20 ± 1,37	0,00 ± 0,09	4,86 ± 8,47

*Moyenne ± écart-type.

4.3 Etude 2. Evaluation de l'exposition alimentaire à l'arsenic et biomarqueurs d'exposition

Dietary exposure and biomarkers of arsenic in consumers of fish and shellfish from France. V Sirot, T Guérin, JL Volatier, JC Leblanc. *Science of the total environment* 407 (2009) 1875 – 1885 (Annexe 5).

L'objectif de cette seconde étude est de caractériser le risque lié à l'exposition à l'arsenic total et inorganique, dans une population de forts consommateurs de produits de la mer, et d'en déduire s'il y a un risque non négligeable dans la population générale.

4.3.1 Matériel et méthode

Sujets et consommations alimentaires

Les 996 adultes (713 femmes et 283 hommes) consommateurs réguliers de produits de la mer de l'étude Calipso (Etude 1, voir 4.1) (Bemrah et al., 2009) ont été considérés. Aucun individu ne s'est déclaré suivi médicalement pour une exposition à l'arsenic.

Les sujets ont été interrogés en face-à-face afin de remplir un questionnaire. La première partie consistait en un questionnaire de fréquence alimentaire. Pour 80 produits de la mer (poissons, mollusques, crustacés, échinodermes et plats à base de produits de la mer), les consommations ont été évaluées en combinant la fréquence de consommation déclarée par la portion habituellement consommée, estimée à partir du cahier photographique de l'étude INCA1 (LeMoullec et al., 1996). Le reste de l'alimentation était réparti en 14 groupes alimentaires de 2 à 17 items alimentaires chacun (soit 118 items au total) pour lesquels seule la fréquence de consommation était reportée (Tableau 10) : pains et produits céréaliers ; viennoiseries, biscuits, pâtisseries et sucreries ; lait et produits laitiers ; graisses, sauces, condiments ; viandes ; abats ; charcuterie ; légumes (hors pomme de terre) ; pomme de terre ; fruits ; eaux ; boissons ; pizzas, quiches, sandwiches, pâtes fourrées ; soupes.

Pour chaque item, la consommation a été estimée en combinant la fréquence de consommation enregistrée à une taille de portion moyenne issue de l'enquête INCA1 (Volatier, 2000) ainsi qu'il est recommandé par la littérature (Cade et al., 2002).

La seconde partie du questionnaire a permis de collecter des données sur les caractéristiques socio-démographiques des interviewés (âge, sexe, poids, etc.), leur consommation de tabac présente ou passée, ainsi que leurs activités professionnelle ou de loisir pouvant contribuer à leur exposition à l'arsenic.

Tableau 10. Description des groupes alimentaires du questionnaire de fréquence

Groupes alimentaires	Types d'aliments inclus dans le groupe	Nb items individuels
Produits de la mer	Poissons, mollusques, crustacés, plats à base de produits de la mer	83
Pains et produits céréaliers	Pains, biscottes, céréales pour petit déjeuner, pâtes, semoule, riz	7
Viennoiseries, biscuits et gâteaux	Viennoiseries, gâteaux, biscuits, chocolats, miel, confitures, sucreries et sucre ajouté	15
Lait et produits laitiers	Lait, fromage blanc, yaourts, crème fraîche, glaces, crèmes desserts, fromages	14
Graisses, sauces et condiments	Huiles, beurre, margarine, ketchup, moutarde, vinaigrette, sauce tomate, sel ajouté	17
Viandes	Bœuf, veau, mouton, porc, volaille	6
Abats	Abats	6
Charcuterie	Jambon, pâté, saucisses et saucissons, bacon, etc.	6
Légumes	Légumineuses, champignons, tomates, haricots, légumes feuilles, légumes racines excepté pomme de terre	9
Fruits	Fruits, fruits rouges, agrumes, melon, banane, pomme, kiwi, compotes de fruits, fruits au sirop, etc.	11
Pommes de terre	Pommes de terre incluant frites et purée	4
Boissons (hors eau)	Jus de fruits, sirops, alcools, café, thé, infusion, boissons rafraichissantes sans alcool	12
Pizzas, quiches et sandwiches	Pizzas, quiches, hamburgers et sandwiches, tartes	6
Eau	Eaux	3
Soupes	Soupes	2

Echantillonnage et analyse des produits de la mer

Afin d'estimer l'apport d'arsenic, un échantillonnage des produits de la mer a été réalisé localement sur chaque site entre janvier et avril 2005. La stratégie d'échantillonnage et de préparation des échantillons composites, représentatifs des consommations des individus, a été décrite par ailleurs (Etude 1, voir 4.1) (Sirot et al., 2008b).

L'arsenic total a été mesuré par ICP-MS. A chaque échantillon (250 mg poids sec) ont été ajoutés 6 mL d'acide nitrique (70%). Les échantillons ont été laissés au repos à température ambiante pendant 12h, puis 2 mL de peroxyde d'hydrogène (30%) ont été ajoutés. Enfin, les échantillons ont été chauffés (3h, 85°C). La quantification a été réalisée par étalonnage externe dans les mêmes conditions que la matrice. La méthode a été validée par analyse d'un matériel de référence certifié (DORM-2 : muscle de roussette, Promochem, Molsheim, France) pour la concentration en arsenic total et en arsénobétaine, selon la norme EN 13804:2002. Seize répliques ont été réalisées, soit trois par série d'analyses. La valeur certifiée était de $18,0 \pm 1,1 \mu\text{g/g}$ et la valeur expérimentale de $18,7 \pm 2,9 \mu\text{g/g}$, avec un taux de recouvrement de 104%.

La spéciation de l'arsenic a été réalisée par couplage chromatographie haute performance en phase liquide - spectrométrie de masse à plasma induit (HPLC-ICP-MS) (Simon et al., 2004b, Simon et al., 2004a). L'extraction des composés organiques et inorganiques a été réalisée dans 5 mL d'eau ultrapure et 5 mL d'éthanol, pendant 1h dans un bac à ultrasons. L'extrait a ensuite été centrifugé (2500 tours, 5 min). La quantification a été réalisée par ajouts dosés. La méthode a été validée par l'analyse de matériaux de référence certifiés (DORM-2 et BCR-627 : thon, Promochem, Molsheim, France) pour la concentration en arsenic total, arsénobétaine et DMA, selon la norme EN 13804:2002. Seize répliques ont également été réalisées. Les valeurs expérimentales obtenues pour l'arsénobétaine étaient concordantes avec les valeurs certifiées ($16,9 \pm 1,2$ µg/g pour $16,9 \pm 1,1$ µg/g pour DORM-2 et $3,7 \pm 0,5$ µg/g pour $3,9 \pm 0,2$ µg/g pour BCR-627) avec des taux de recouvrement de 100% et 95% respectivement. De même, les valeurs expérimentales obtenues pour le DMA étaient concordantes avec les valeurs certifiées pour BCR-627 ($0,16 \pm 0,03$ µg/g pour $0,15 \pm 0,02$ µg/g) avec un taux de recouvrement de 107%.

Pour les deux méthodes, les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) ont été estimées à 3 et 10 fois l'écart-type de la moyenne des blancs (n=21) après correction pour le poids et la dilution. Les LOD étaient comprises entre 0,002 et 0,010 µg/g poids frais selon l'espèce arsénisée considérée, les LOQ entre 0,005 et 0,030 µg/g poids frais.

Collecte et analyse d'échantillons urinaires

Pour 382 volontaires parmi les 996 sujets, un échantillon d'urine a été collecté à jeun, dans des tubes EBCU, moins d'un mois après l'interview en face à face. Les échantillons ont été congelés à -25°C jusqu'à l'analyse. La concentration en arsenic urinaire a été déterminée par ICP-MS après dilution dans une solution à 10 µg/L d'euprium utilisé comme standard interne (LOQ = 5µg/L, LOD = 1,3 µg/L). La spéciation de l'arsenic a été réalisée sur les échantillons pour lesquels la teneur en arsenic total dépassait les 75 µg/g de créatinine. L'arsénobétaine et l'arsenocholine ont été séparées par une extraction liquide-liquide, afin de déterminer uniquement les espèces As(III), As(V), MMA(V) et DMA(V) par spectrométrie d'absorption atomique avec four graphite (*graphite furnace atomic absorption spectroscopy*), avec correction par effet Zeeman (Le Bouil et al., 1997).

Calcul des expositions et analyses statistiques

Les hommes et les femmes ont été traités séparément pour l'analyse des données, chaque groupe n'étant pas représentatif des consommateurs réguliers de produits de la mer.

L'exposition alimentaire à l'arsenic a été évaluée de façon séparée pour la consommation de produits de la mer et des autres aliments. L'exposition à l'arsenic (total, organique et inorganique) via la consommation de produits de la mer a été évaluée pour chaque sujet, en croisant les données de consommation issues du questionnaire de fréquence pour chaque espèce, par sa contamination issue de l'analyse de l'échantillon correspondant au site de résidence de l'individu, ou la moyenne des

autres sites si l'espèce n'avait pas été échantillonnée. Les données de contamination censurées (<LOD ou <LOQ) ont été estimées par la moitié des limites analytiques.

L'exposition à l'arsenic via le reste de l'alimentation, dont l'eau de boisson, a été calculée en combinant les données de consommation individuelles par les données de contamination en arsenic total issues de la première étude de l'alimentation totale française (Leblanc et al., 2005). Il s'agit donc de données de contamination collectées selon une méthodologie standardisée, et représentatives des aliments consommés en France. Afin d'évaluer l'exposition à l'arsenic inorganique, la part de l'arsenic inorganique dans les différents groupes d'aliments a été évaluée à partir des données de l'OMS et de l'US-EPA : 75% dans les viandes et produits laitiers, 65% dans les volailles et céréales, 10% dans les fruits, 5% dans les légumes et 100% dans les boissons (WHO, 2004, US EPA, 2001b). Les coefficients correspondants ont été appliqués à l'exposition via chaque groupe d'aliments.

Les marges d'exposition ont été calculées sur la base de la BMDL_{0,5} de 3 µg/kg pc/j proposée par le JECFA en 2010 (JECFA, 2010a).

Les expositions moyennes des hommes et des femmes aux différentes espèces arsénisées ont été comparées à l'aide du test de Student. Un ajustement a été réalisé pour pallier les erreurs liées à la multiplication des tests (α /nombre de tests).

Les analyses statistiques ont été réalisées sur SAS version 9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

4.3.2 Résultats

Contamination des produits de la mer par l'arsenic

L'arsénobétaine est détectée dans 100% des échantillons et les formes arsénisées les moins toxiques, MMA et DMA, sont détectées dans 84% et 15%, respectivement (non présenté).

Les concentrations en arsenic total (Tableau 11) sont cohérentes avec les données de la littérature européenne (De Gieter et al., 2002, Marti-Cid et al., 2007, FSA, 2005). La part d'arsenic organique est relativement importante dans les produits de la mer : plus de 90%. Dans les poissons, 0,1 et 3,5% de l'arsenic total est sous forme inorganique, ce qui est également cohérent avec la littérature (Velez et al., 1995, Schoof et al., 1999, Borak and Hosgood, 2007), et jusqu'à 6,7% dans l'échantillon d'oursins.

Tableau 11. Teneurs moyennes en espèces arseniées des produits de la mer (µg/g poids frais)

Produits	n*	As _T †	As _{org}	As _{inorg}
Poissons frais et surgelés				
Anchois (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	1	0,94	0,748	0,015
Baudroie ou lotte (<i>Lophius piscatorius</i> , <i>Lophius budegassa</i>)	4	6,00	6,648	0,013
Roussette ou saumonette (<i>Scyliorhinus canicula</i> , <i>Scyliorhinus stellaris</i>)	4	34,3	31,22	0,042
Cabillaud (<i>Gadus morhua</i>)	4	5,25	5,324	0,017
Limande (<i>Limanda limanda</i> , <i>Microstomus kitt</i>)	4	21,8	19,91	0,030
Anguille (<i>Anguilla anguilla</i>)	1	0,71	0,588	0,005
Empereur (<i>Hoplostethus atlanticus</i>)	3	1,19	0,836	0,008
Rouget (<i>Mullus barbatus</i> , <i>Mullus surmuletus</i>)	3	16,1	15,68	0,068
Grenadier (<i>Coryphaenoides rupestris</i>)	4	3,90	4,166	0,008
Grondin (<i>Trigla lucerna</i> , <i>Eutrigla gurnardus</i> , <i>Aspitrigla cuculus</i>)	1	6,28	6,928	0,018
Eglefin (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	2	6,52	6,583	0,013
Merlu (<i>Merluccius merluccius</i>)	4	4,28	4,249	0,018
Flétan (<i>Hippoglossus hippoglossus</i> , <i>Reinhardtius hippoglossoides</i> , <i>Reinhardtius hippoglossoides</i>)	4	5,69	5,037	0,013
Saint-Pierre (<i>Zeus faber</i>)	2	1,12	1,144	0,015
Julienne, lingue (<i>Molva molva</i> , <i>Molva dypterygia</i> , <i>dypterygia</i> , <i>Molva dypterygia dypterygia</i>)	4	4,70	4,368	0,008
Maquereau (<i>Scomber scombrus</i>)	4	2,41	1,916	0,029
Carrelet, plie (<i>Pleuronectes platessa</i> , <i>Glyptocephalus cynoglossus</i> , <i>Glyptocephalus cynoglossus</i>)	2	12,4	13,026	0,015
Lieu jaune (<i>Pollachius pollachius</i>)	3	3,65	3,37	0,040
Tacaud (<i>Trisopterus luscus</i> , <i>Trisopterus minutus capelanus</i> , <i>Trisopterus minutus capelanus</i>)	1	13,8	16,87	0,073
Raie (<i>Raja clavata</i> , <i>Raja naevus</i> , <i>Raja circularis</i>)	4	21,8	17,67	0,069
Colin, lieu noir (<i>Pollachius virens</i>)	4	1,40	1,434	0,017
Saumon (<i>Salmo salar</i>)	4	1,66	1,338	0,024
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	4	6,02	5,935	0,048
Rascasse (<i>Scorpaena porcus</i> , <i>Scorpaena scrofa</i> , <i>Helicolenus dactylopterus</i>)	1	1,92	1,868	0,011
Dorade (<i>Spondylusoma cantharus</i> , <i>Sparus aurata</i> , <i>Pagellus bogaraveo</i>)	4	3,30	2,809	0,051
Bar, loup (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	4	1,90	1,711	0,022
Sole (<i>Solea solea</i>)	4	14,3	14,55	0,011
Espadon (<i>Xiphias gladius</i>)	4	1,00	0,739	0,031
Thon (<i>Thunnus thynnus</i>)	4	2,45	1,835	0,009
Merlan (<i>Merlangius merlangus</i> , <i>Micromesistius poutassou</i>)	4	3,85	3,767	0,028
Mollusques et crustacés				
Pétoncle (<i>Chlamys varia</i>)	1	2,42	2,094	0,004
Coque (<i>Cerastoderma edule</i>)	2	1,78	1,528	0,106
Crabe (<i>Cancer pagurus</i>)	3	16,8	13,16	0,253
Seiche (<i>Sepia officinalis</i>)	2	5,59	5,349	0,031
Coquille St-Jacques (<i>Pecten maximus</i>)	4	2,96	2,463	0,097
Homard (<i>Homarus gammarus</i>)	1	7,08	5,448	0,042
Moule (<i>Mytilus edulis</i>)	4	6,61	5,747	0,090
Poulpe (<i>Octopus vulgaris</i>)	1	42,3	32,02	0,227
Huitre (<i>Crassostrea gigas</i>)	4	2,20	1,695	0,110
Bigorneau, vigneau (<i>Littorina littorea</i>)	3	6,39	4,155	0,186
Langoustine (<i>Nephrops norvegicus</i>)	3	8,75	7,09	0,090

Produits	n*	As _T †	As _{org}	As _{Inorg}
Oursin (<i>Paracentrotus lividus</i>)	1	3,25	2,934	0,218
Crevette, bouquet, gambas (<i>Palaemon serratus</i> , <i>Crangon crangon</i>)	4	1,31	1,144	0,010
Araignée de mer (<i>Maia squinado</i>)	1	37,2	27,63	0,184
Calmar, encornet ou chipiron (<i>Loligo vulgaris</i>)	4	5,92	5,072	0,007
Etrille (<i>Portunus puber</i>)	2	10,1	8,531	0,054
Bulot, buccin (<i>Buccinum undatum</i>)	3	15,8	14,52	0,078
Produits en conserve				
Anchois (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	2	0,80	0,625	0,019
Crabe/tourteau (<i>Cancer pagurus</i>)	1	2,23	2,057	0,068
Maquereau (<i>Scomber scombrus</i>)	1	0,70	0,448	0,007
Pilchard (<i>Sardina pilchardus</i>)	1	1,91	1,733	0,065
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	1	3,54	2,162	0,031
Thon (<i>Thunnus alalunga</i> , <i>Euthynnus pelamis</i>)	5	0,81	0,955	0,004
Poissons fumés				
Haddock (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	1	1,06	1,165	0,017
Hareng (<i>Clupea harengus</i>)	1	1,25	1,639	0,009
Maquereau (<i>Scomber scombrus</i>)	1	2,06	1,891	0,031
Saumon (<i>Salmo salar</i>)	1	2,00	1,533	0,002
Plats préparés à base de produits de la mer				
Soupe de poisson	2	0,68	0,897	0,020
Paella	1	0,11	0,281	0,002
Surimi	1	0,39	0,335	0,007
Tarama	1	0,18	1,302	0,002

As_T : arsenic total ; ASB : arsenobétaine ; MMA : acide monométhylarsinique ; DMA : acide diméthylarsinique ; As_{Inorg} : arsenic inorganique. *Nombre d'échantillons composites. Chaque échantillon est composé de 15 sous-échantillons de la même espèce, représentatifs des modes d'approvisionnement de chaque zone (port, marché, supermarché...); †La somme des concentrations des formes de spéciation de l'arsenic n'est pas égale à la concentration en As total (As_T) car les analyses ont été réalisées séparément pour chaque élément.

Exposition alimentaire à l'arsenic

Parmi les produits de la mer, les poissons frais et surgelés apparaissent comme le principal contributeur à l'exposition à l'arsenic total (Tableau 12). Les mollusques et crustacés contribuent à l'exposition à l'arsenic total à hauteur de 25%, et leur contribution à l'exposition à l'arsenic inorganique est équivalente à celle des poissons. Bien que moins consommés, les mollusques et crustacés présente une part d'arsenic inorganique plus élevée. Les autres produits de la mer, peu consommés, contribuent peu à l'exposition.

L'exposition des femmes apparaît généralement plus élevée que celle des hommes, bien que cette tendance ne soit significative que pour l'arsenic total et inorganique via la consommation de poissons frais et surgelés.

Tableau 12. Exposition des 996 sujets à l'arsénobétaine (AsB), à l'arsenic organique (As_{org}) et inorganique (As_{inorg}) via leur consommation de produits de la mer (µg/kg pc/sem)

Groupe de produits de la mer			AsB	Total As _{org}	Total As _{inorg}	As _T
Poissons frais et surgelé	F	Moy ± ET†	58,9 ± 50,8	59,4 ± 51,2	0,291 ± 0,302	62,4 ± 53,5
		P95	156	156	0,755	162
	H	Moy ± ET†	46,7 ± 39,8***	47,0 ± 40,1***	0,227 ± 0,211***	50,3 ± 43,0***
		P95	125	126	0,621	127
Mollusques et crustacés frais et surgelés	F	Moy ± ET†	18,9 ± 22,2	19,1 ± 22,4	0,323 ± 0,492	22,7 ± 26,6
		P95	55,6	57,1	0,924	68,0
	H	Moy ± ET†	15,6 ± 17,3	15,8 ± 17,4	0,245 ± 0,274	18,8 ± 21,4
		P95	42,3	42,6	0,707	51,0
Produits en conserve	F	Moy ± ET†	1,54 ± 1,80	1,63 ± 1,91	0,031 ± 0,044	1,95 ± 2,25
		P95	4,05	4,28	0,095	5,26
	H	Moy ± ET†	1,53 ± 1,61	1,63 ± 1,70	0,031 ± 0,036	1,99 ± 2,01
		P95	4,47	4,84	0,101	6,12
Poissons fumés	F	Moy ± ET†	0,44 ± 0,64	0,463 ± 0,679	0,004 ± 0,007	0,516 ± 0,751
		P95	1,55	1,62	0,015	1,68
	H	Moy ± ET†	0,41 ± 0,49	0,431 ± 0,518	0,003 ± 0,006	0,453 ± 0,512
		P95	1,50	1,54	0,013	1,47
Plats préparés à base de produits de la mer	F	Moy ± ET†	1,34 ± 1,71	1,37 ± 1,75	0,034 ± 0,044	0,942 ± 1,23
		P95	4,70	4,78	0,117	3,26
	H	Moy ± ET†	1,20 ± 1,27	1,22 ± 1,29	0,031 ± 0,034	0,833 ± 0,926
		P95	3,58	3,62	0,095	2,68

ASB : arsenobétaine ; As_{org} : arsenic organique ; As_{inorg} : arsenic inorganique ; As_T : arsenic total ; F : Femmes ; H : Hommes. †Moyenne ± écart-type. La significativité du test de Student entre hommes et femmes est représentée par des étoiles (* P<0,05 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001).

Plus particulièrement, l'exposition moyenne à l'arsenic total via le régime alimentaire complet est de $94,7 \pm 67,5$ µg/kg pc/sem pour les femmes, et $77,3 \pm 54,6$ µg/kg pc/sem pour les hommes ($P < 0,001$) (Tableau 13). Plus de 90% de l'exposition provient des produits de la mer ($94 \pm 3\%$ chez les hommes et $94 \pm 2\%$ chez les femmes) qui apparaissent également comme le contributeur majoritaire à l'exposition à l'arsenic organique. L'arsenic inorganique est majoritairement apporté par l'eau et les autres boissons ($60 \pm 6\%$ chez les hommes, $54 \pm 4\%$ chez les femmes), les produits de la mer constituant le troisième contributeur.

L'exposition moyenne à l'arsenic inorganique est de $3,34 \pm 2,06$ µg/kg pc/sem pour les femmes, et $3,04 \pm 1,86$ µg/kg pc/sem pour les hommes. L'exposition au 95^e percentile est de $6,67$ µg/kg pc/sem chez les femmes, et $6,84$ µg/kg pc/sem chez les hommes. Les MOE correspondantes, en moyenne comme au 95^e percentile, calculées à partir de la borne basse de la BMDL₀₁ de l'EFSA ($0,3$ µg/kg pc/j), sont donc inférieures à 1.

Tableau 13. Exposition des 996 sujets à l'arsenic (As) total, organique et inorganique, via l'ensemble de leur alimentation (µg/kg pc/semaine)

Groupe d'aliments		As total		As organique		As inorganique	
		Moy ± ET†	P95	Moy ± ET†	P95	Moy ± ET†	P95
Ensemble des produits de la mer	F	88,6 ± 67,1	225	81,9 ± 62,3	206	0,682 ± 0,638	1,66
	H	72,4 ± 54,4***	172	66,2 ± 49,3***	161	0,537 ± 0,410***	1,34
Boissons (excepté eau)	F	1,02 ± 1,42	3,01	0,000 ± 0,000	0,000	1,02 ± 1,42	3,01
	H	1,20 ± 1,36	4,18	0,000 ± 0,000	0,000	1,20 ± 1,36	4,18
Pain, produits céréaliers, viennoiseries, biscuits, pâtisseries et sucreries	F	0,212 ± 0,113	0,414	0,074 ± 0,039	0,145	0,138 ± 0,073	0,269
	H	0,186 ± 0,114***	0,393	0,065 ± 0,040***	0,138	0,121 ± 0,074***	0,256
Lait et produits laitiers	F	0,142 ± 0,111	0,317	0,035 ± 0,028	0,079	0,106 ± 0,083	0,238
	H	0,111 ± 0,096***	0,317	0,028 ± 0,024***	0,079	0,084 ± 0,072***	0,238
Graisses, sauces, condiments	F	0,136 ± 0,089	0,307	0,136 ± 0,089	0,307	0,000 ± 0,000	0,000
	H	0,101 ± 0,062***	0,212	0,101 ± 0,062***	0,212	0,000 ± 0,000	0,000
Fruits	F	3,22 ± 2,78	8,76	2,90 ± 2,50	7,88	0,322 ± 0,278	0,876
	H	2,12 ± 2,01***	5,94	1,91 ± 1,81***	5,35	0,212 ± 0,201***	0,594
Viandes, charcuteries et abats	F	0,250 ± 0,142	0,515	0,068 ± 0,038	0,141	0,182 ± 0,104	0,375
	H	0,226 ± 0,129***	0,455	0,061 ± 0,035***	0,127	0,164 ± 0,094***	0,329
Pommes de terre	F	0,082 ± 0,083	0,247	0,078 ± 0,079	0,235	0,004 ± 0,004	0,012
	H	0,073 ± 0,071	0,201	0,069 ± 0,068	0,191	0,004 ± 0,004	0,010
Pizzas, quiches, sandwiches, pâtes fourrées	F	0,053 ± 0,048	0,130	0,019 ± 0,017	0,046	0,035 ± 0,031	0,085
	H	0,054 ± 0,060	0,174	0,019 ± 0,021	0,061	0,035 ± 0,039	0,113
Légumes hors pommes de terre et soupes	F	0,303 ± 0,188	0,627	0,222 ± 0,149	0,477	0,081 ± 0,072	0,221
	H	0,187 ± 0,125***	0,436	0,142 ± 0,093***	0,323	0,046 ± 0,054***	0,158
Eau	F	0,770 ± 1,01	1,65	0,000 ± 0,000	0,000	0,770 ± 1,01	1,65
	H	0,639 ± 0,907	1,34	0,000 ± 0,000	0,000	0,639 ± 0,907	1,34
TOTAL	F	94,7 ± 67,5	231	85,4 ± 65,6	211	3,34 ± 2,06	6,67
	H	77,3 ± 54,6***	176	68,6 ± 49,5***	164	3,04 ± 1,86	6,84

F : femmes ; H : hommes. †Moyenne ± écart-type. La significativité du test de Student entre hommes et femmes est représentée par des étoiles (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

Concentrations urinaires en arsenic

Sur les 382 sujets, 12 (soit 3% [IC_{95%} : 0,01 ; 0,05]) présentent une concentration en arsenic total urinaire inférieure à la LOQ de 5 µg/L. Malgré les quelques différences significatives notées dans l'exposition alimentaire entre hommes et femmes, il n'y a pas de différence dans les concentrations urinaires en arsenic total (ajustées ou non sur la créatinine) entre hommes et femmes (Tableau 14), ni entre fumeurs et non-fumeurs (non présenté).

Il n'apparaît pas de corrélation entre l'exposition alimentaire à l'arsenic total, l'apport d'arsenic total via les produits de la mer, via l'eau, via le reste de l'alimentation, et l'arsenic total urinaire.

Pour une centaine de sujets présentant les plus fortes concentrations en As total urinaire, la spéciation de l'arsenic a été réalisée (n = 101 échantillons, 22 hommes et 79 femmes, > 75 µg/g créatinine). Le ratio femmes/hommes dans ce sous-groupe est supérieur au ratio dans la population étudiée (3,6 contre 2,5). Les concentrations sont de 27,1 ± 20,6 µg/g créatinine chez les femmes et 24,6 ± 27,9 µg/g créatinine chez les hommes.

Il n'apparaît pas de corrélation entre l'exposition alimentaire à l'arsenic inorganique (via la consommation de produits de la mer, d'autres aliments, d'eau ou du régime complet) et l'arsenic inorganique urinaire. En revanche, la consommation de poissons benthiques (poissons de fond : baudroie ou lotte, plie, grenadier, flétan, etc.) est significativement corrélée à l'arsenic inorganique urinaire pondéré par la créatinine ($P = 0,003$).

Tableau 14. Concentration en arsenic (As) total et inorganique dans les échantillons d'urine

Ensemble de sujets, n=382	Femmes, n=280		Hommes, n=102	
	Moy ± ET†	P95	Moy ± ET†	P95
As total urinaire, µg/L	95,3 ± 218	319	87,7 ± 129	304
Créatinine, g/L	1,17 ± 0,60	2,20	1,57 ± 0,63***	2,64
As/créatinine, µg/g	94,8 ± 250	310	59,7 ± 81,8*	230
Sujets ayant une teneur en As total > 75 µg/g créatinine, n=101	Femmes, n=79		Hommes, n=22	
As total urinaire, µg/L	260 ± 361	880	256 ± 198	603
As/créatinine, µg/g	265 ± 427	570	174 ± 116	396
As inorganique urinaire, µg/L	26,2 ± 21,1	67,1	35,3 ± 41,3	95,4
As inorganique urinaire/ créatinine, µg/g	27,1 ± 20,6	60,7	24,6 ± 27,9	60,5

†Moyenne ± écart-type. La significativité du test de Student entre hommes et femmes est représentée par des étoiles (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

4.4 Etude 3. Une approche de type « splines cubiques restreints » afin de décrire l'association entre consommation de poissons très gras et concentration en EPA+DHA des hématies

A restricted cubic spline approach to assess the association between high fat fish intake and red blood cell EPA+DHA content. V Sirot, C Dumas, L Desquilbet, F Mariotti, P Legrand, D Catheline, JC Leblanc, I Margaritis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. In Press (Annexe 5).

Le premier objectif de cette troisième étude est de caractériser la relation entre la consommation de poissons très gras et un biomarqueur de santé cardiovasculaire (la teneur en EPA+DHA des hématies), afin de maximiser le bénéfice lié aux AGPI LC n-3. La plupart des études ayant tenté de caractériser cette association se sont appuyées sur une relation linéaire (Berry et al., 2001, Dallongeville et al., 2003, Sands et al., 2005, Mina et al., 2007, Itomura et al., 2008). Néanmoins, une association basée sur un polynôme de degré 3 a été montrée entre l'apport d'oméga 3 et le DHA sanguin (Andersen et al., 1996). Nous avons donc testé l'hypothèse de non-linéarité entre la consommation de poissons très gras et la teneur en EPA+DHA des hématies de forts consommateurs de produits de la mer, afin de déterminer un niveau d'apport optimal.

4.4.1 Matériel et méthode

Sujets

Parmi les 996 consommateurs réguliers de produits de la mer de l'étude Calipso (2004) (Leblanc, 2006), 382 volontaires ont été inclus dans cette Etude 3 (281 femmes et 101 hommes). La sélection des sites d'étude, des sujets de l'étude Calipso, ainsi que la méthodologie de recueil des consommations alimentaires sont décrites en détail dans les Etudes 1 et 2 (voir 4.1 et 4.3) ainsi que dans Bemrah et al 2009 (Bemrah et al., 2009). Les sujets ayant déclaré être traités pour un diabète, une maladie rénale ou de l'hypertension artérielle ont été exclus.

Données anthropométriques et socioéconomiques

Les informations suivantes ont été collectées pour chaque sujet : le poids corporel, la taille, l'âge, le statut socioéconomique, la consommation de tabac au moment de l'étude et antérieure.

Les sujets ont été répartis en 4 catégories : les non-fumeurs (personnes n'ayant jamais fumé), les anciens fumeurs (ayant arrêté de fumer au plus tard l'année précédente, quelle que soit leur

consommation), les petits fumeurs (fumant moins de 20 cigarettes par jour) et les gros fumeurs (fumant 20 cigarettes par jour et plus).

La variable statut socioéconomique a été dichotomisée en 3 classes : élevée, moyenne et basse. La classification s'est appuyée sur la catégorie socioprofessionnelle de l'interviewé, ou sur celle du chef de famille lorsque celle-ci était plus élevée, afin de tenir compte de la profession, du revenu global du foyer, mais aussi sur le niveau de formation/éducation, dans la mesure où ces trois facteurs sont associés aux consommations alimentaires mais aussi aux oméga 3 sanguins (Cohen et al., 2008). La catégorie statut « élevé » regroupait les commerçants et assimilés (actuels ou retraités), chefs d'entreprise, professions libérales, cadres (tous types), professions scientifiques, ingénieurs, professeurs, professeurs des écoles, instituteurs, et professions intermédiaires (tout type). La catégorie statut « moyen » regroupait les professions de l'information (actuels ou retraités), professions des arts et des spectacles, le clergé, les techniciens, contremaîtres, agents de maîtrise, employés (tout type) et personnels des services directs aux particuliers. Enfin la catégorie statut « bas » regroupait les agriculteurs (actuels ou retraités), artisans, ouvriers (tout type), chauffeurs, policiers ou militaires, étudiants (vivant seul) et autres personnes sans activité.

Recueil des consommations alimentaires

Les consommations d'alcool (g/semaine) ont été multipliées par le taux moyen d'alcool (% éthanol) issues des données de la table de composition française (AFSSA-CIQUAL, 2008) : bière : 4%, champagne : 9%, vin : 11%, apéritifs : 15%, alcools forts : 34%, digestifs : 40%.

La consommation de poissons très gras a été estimée en sommant les consommations des poissons dont la concentration en EPA+DHA est au moins de 1200 mg/100 g (voir Tableau 15 pour la liste).

Tableau 15. Composition en EPA et DHA (mg/100 g de poids frais) des poissons très gras (PTG, concentration >1200 mg EPA+DHA/100 g)

Poissons	EPA	DHA	EPA+DHA
Maquereau fumé (<i>Scomber scombrus</i>)	2329	2283	4612
Saumon frais ou surgelé (<i>Salmo salar</i>)	1112	2164	3276
Hareng fumé (<i>Clupea harengus</i>)	1508	1640	3148
Sardine en conserve (<i>Sardina pilchardus</i>)	1108	1999	3107
Espadon frais ou surgelé (<i>Xiphias gladius</i>)	1265	1750	3015
Hareng frais ou surgelé (<i>Clupea harengus</i>)	944	1927	2871
Maquereau en conserve (<i>Scomber scombrus</i>)	791	1985	2776
Saumon fumé (<i>Salmo salar</i>)	902	1829	2731
Flétan frais ou surgelé (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>)	969	1400	2369
Pilchard (<i>Sardina pilchardus</i>)	773	1591	2364
Maquereau frais ou surgelé (<i>Scomber scombrus</i>)	662	1404	2066
Anchois frais ou surgelé (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	701	1365	2066
Sardine fraîche ou surgelée (<i>Sardina pilchardus</i>)	638	1269	1907
Anchois en bocal (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	466	886	1352
Dorade fraîche ou surgelée (<i>Sparus aurata</i>)	497	773	1270
Empereur frais ou surgelé (<i>Hoplostethus atlanticus</i>)	471	742	1213

La consommation des autres produits de la mer a été estimée en sommant les consommations de tous les autres poissons, des mollusques, crustacés et plats à base de produits de la mer (voir Tableau 16 pour la liste).

Les apports d'EPA et DHA via la consommation de produits de la mer ont été estimés en multipliant la consommation de chaque espèce par sa teneur en EPA et DHA mesurée précédemment (Sirost et al., 2008b, Bemrah et al., 2009). Le même type de calcul a été fait pour évaluer les apports de méthylmercure et d'arsenic total et inorganique (voir Etudes 1 et 2, chapitres 4.1 et 4.3).

Prélèvements sanguins et analyses

Deux échantillons de sang total (2x4 mL) ont été prélevés sur la veine antécubitale de chaque sujet, dans des tubes héparinés, moins d'un mois après l'interview en face à face. Les échantillons ont été congelés à -20°C jusqu'à l'analyse. Sur les premiers échantillons, un profil lipidique standard a été réalisé : cholestérol total, HDL-cholestérol (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C), LDL-cholestérol (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C), et triglycérides.

Sur les seconds échantillons, les teneurs en acides gras de la membrane des hématies ont été déterminées. Les prélèvements ont été centrifugés (3500 g, 10 min, 4°C) après élimination du plasma. Les hématies ont été congelées à -80°C. Les lipides ont été extraits par un mélange hexane/isopropanol (3:2 v/v, Fisher, Elancourt, France) (Rioux et al., 2000). Après évaporation des solvants sous flux d'azote, les lipides ont été saponifiés puis méthylés (BF₃ 14% méthanol). Puis les esters méthyliques formés ont été extraits à leur tour par du pentane, séparés, et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse (Agilent Technologies 6890N, Bios Analytic, l'Union, France). Le chromatographe était équipé d'un injecteur split (1:20 v/v) et d'une colonne capillaire BPX70 (30m x 250 µm, SGE, Villeneuve-Saint-George, France) avec une phase stationnaire de 0,25 µm d'épaisseur. Le détecteur était un détecteur à ionisation de flamme à 250°C (débits : air, 450 mL/min ; hydrogène, 40 mL/min). Le gaz vecteur était l'hélium (débit constant : 1mL/min) et un gradient de température de 150°C à 220°C à 2°C/min était appliqué. Les esters d'acides gras méthylés ont été identifiés à l'aide des temps de rétention obtenus sur des esters standards (Sigma, Saint-Quentin Fallavier, France).

Analyses statistiques

Les sujets ont été classés en 4 quartiles de consommation de poissons très gras : faible (<105 g/semaine, soit <1 portion/semaine), modérée (105 à 180 g/semaine, soit 1 portion/semaine), élevée (180-315 g/semaine, soit 1 à 2 portions/semaine) et très élevée (>315 g/semaine, soit >2 portions/semaine).

Les associations entre les teneurs en acides gras érythrocytaires – EPA, DHA, EPA+DHA – et les consommations et apports – EPA, DHA, EPA+DHA, poissons très gras – ont été décrites au moyen de régressions linéaires multiples ajustées sur l'âge, le sexe, le site d'étude, le statut tabagique, le statut socioéconomique, la consommation d'autres produits de la mer, de viandes, charcuteries, et alcool. Des fonctions faisant appel à des splines cubiques restreints (Smith, 1979, Greenland, 1995,

Desquilbet and Mariotti, 2010) ont été utilisées pour caractériser au mieux des relations dose-réponse entre les teneurs en acides gras érythrocytaires et les variables continues (Steenland and Deddens, 2004), et afin de minimiser le résidu confondant pour les variables continues (Brenner and Blettner, 1997). Les variables continues ont été incluses dans le modèle avec des fonctions splines cubiques restreints à 3 nœuds (localisés aux 5^e, 50^e et 95^e percentiles) lorsque l'hypothèse de linéarité était vérifiée (P pour l'association non-linéaire $< 0,10$). Les variables continues d'intérêt (EPA, DHA, EPA+DHA, poissons très gras) ont été introduites dans le modèle avec des fonctions splines cubiques restreints à 3 nœuds (localisés aux 5^e, 50^e et 95^e percentiles), 4 nœuds (localisés aux 5^e, 25^e, 75^e et 95^e percentiles) ou 5 nœuds (localisés aux 5^e, 25^e, 50^e, 75^e et 95^e percentiles), selon le critère d'Akaike (AIC) (Akaike, 1974) (plus faible valeur pour $AIC = -2 \log (\text{vraisemblance}) + 2 \times \text{nb paramètres}$). Les variables continues (normalisées pour la consommation de charcuterie, d'autres produits de la mer et d'alcool) ont été comparées entre quartiles de consommation de poissons très gras à l'aide de tests de Tukey, et les variables catégorielles ont été comparées à l'aide de tests du Chi² (paramétriques pour les variables dont la distribution suivait une loi normale) et de tests de Fisher (non-paramétriques pour les variables dont la distribution ne suivait pas une loi normale). Les analyses ont été réalisées sur SAS version 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Le risque de première espèce (Alpha) considéré était de 5%. La macro %RCS_reg a été utilisée pour les fonctions splines cubiques restreints (Desquilbet and Mariotti, 2010).

4.4.2 Résultats

Apports en acides gras

Du premier jusqu'au dernier quartile, la consommation totale de poissons ($P<0,001$) et d'autres produits de la mer ($P<0,001$) augmente d'un facteur 8 environ, avec la consommation de poissons très gras (Tableau 16). Il apparaît que deux sujets ne consomment pas de poissons très gras, en plus de leur consommation d'autres produits de la mer.

L'indice de masse corporelle (IMC), le sexe, le statut socioéconomique, la consommation de viandes et de charcuterie, ou encore le statut tabagique ne diffèrent pas entre les quartiles. En revanche, il existe au moins une différence significative entre les différents quartiles dans l'âge moyen des sujets ($P = 0,002$), la consommation d'alcool, les apports d'AGPI n-3 à longue chaîne (EPA, DHA, EPA+DHA et DPA, $P<0,001$), et dans l'apport de contaminants (arsenic total, arsenic inorganique et méthylmercure, $P<0,001$) (Tableau 16).

Même dans le premier quartile, la recommandation d'apport en EPA+DHA de 500 mg/jour (AFSSA, 2010a) est atteinte en moyenne (551 mg/jour). Cinquante-deux sujets (14%) n'atteignent pas cette recommandation, car leur consommation de poissons gras (riches en EPA+DHA) est faible, comparée à celle des individus qui atteignent la recommandation (85 g/sem et 318 g/sem, respectivement).

Tableau 16. Caractéristiques, consommations et apports de la population selon la consommation de poissons très gras (PTG)

	Ensemble de la population	Quartiles de consommation de PTG*					P†
	(n=382)	Q1 (n=95)	Q2 (n=98)	Q3 (n=93)	Q4 (n=96)		
Consommations‡							
PTG, g/sem	235 ± 197	61 ± 27	138 ± 22	233 ± 38	507 ± 193	<0,001	
Autres produits de la mer, g/sem	745 ± 490	585 ± 427	612 ± 315	737 ± 440	1046 ± 599	<0,001	
Viandes, g/sem	696 ± 381	733 ± 369	654 ± 379	706 ± 384	688 ± 390	0,283	
Charcuterie, g/sem	227 ± 195	245 ± 193	236 ± 178	220 ± 241	203 ± 158	0,293	
Alcool, g éthanol/sem	113 ± 186	94 ± 186	102 ± 141	110 ± 156	145 ± 243	0,018	
Age, années‡	46 ± 14	41 ± 14	44 ± 14	48 ± 15	49 ± 12	0,002	
Indice de masse corporelle, kg/m²‡	24,0 ± 3,9	23,8 ± 3,6	23,9 ± 3,6	23,7 ± 4,2	24,4 ± 4,2	0,581	
Femme, n (%)	281 (74%)	75 (79%)	68 (69%)	70 (75%)	68 (71%)	0,471	
Statut socioéconomique, n (%)						0,319	
Elevé	149 (39%)	27 (28%)	42 (43%)	42 (45%)	38 (40%)		
Moyen	121 (32%)	36 (38%)	27 (27%)	29 (31%)	29 (30%)		
Bas	112 (29%)	32 (34%)	29 (30%)	23 (24%)	28 (30%)		
Statut tabagique, n (%)						0,349	
Non fumeur	193 (51%)	43 (45%)	52 (53%)	44 (47%)	54 (56%)		
Ancien fumeur	71 (18%)	17 (18%)	16 (16%)	21 (23%)	17 (18%)		
Petit fumeur (<20 cig/jour)	83 (22%)	20 (21%)	23 (24%)	23 (25%)	17 (18%)		
Gros fumeur (>20 cig/jour)	35 (9%)	15 (16%)	7 (7%)	5 (5%)	8 (8%)		
Apports d'acides gras via la consommation de produits de la mer, mg/j							
EPA	448 ± 317	210 ± 109	301 ± 91	442 ± 130	834 ± 366	<0,001	
DPA	124 ± 99	49 ± 27	79 ± 28	117 ± 36	249 ± 114	<0,001	
DHA	772 ± 538	341 ± 149	532 ± 141	773 ± 195	1435 ± 618	<0,001	
EPA+DHA	1220 ± 847	551 ± 253	833 ± 225	1215 ± 310	2269 ± 968	<0,001	
Apports de contaminant, µg/kg pc/sem‡							
Arsenic total	84 ± 63	67 ± 60	66 ± 48	82 ± 48	122 ± 75	<0,001	
Arsenic inorganique	0,66 ± 0,68	0,45 ± 0,33	0,51 ± 0,33	0,62 ± 0,53	1,06 ± 1,06	<0,001	
Méthylmercure	1,51 ± 1,17	0,95 ± 0,60	1,14 ± 0,59	1,60 ± 0,91	2,32 ± 1,68	<0,001	

Autres produits de la mer : anguille (*Anguilla anguilla*), rouget (*Mullus surmuletus*), rascasse (*Scorpaena scrofa*), bar ou loup (*Dicentrarchus labrax*), éperlan (*Osmerus eperlanus*), baudroie ou lotte (*Lophius piscatorius*), roussette (*Scylliorhinus canicula*), cabillaud ou morue (*Gadus morhua*), limande (*Limanda limanda*, *Microstomus kitt*), carrelet ou plie (*Pleuronectes platessa*), grenadier ou hoki (*Coryphaenoides rupestris*), grondin (*Aspitrigla cuculus*), églefin (*Melanogrammus aeglefinus*), merlu (*Merluccius merluccius*), Saint-pierre (*Zeus faber*), julienne ou lingue (*Molva molva*), lieu jaune (*Pollachius pollachius*), tacaud ou gade (*Trisopterus luscus*), raie (*Raja species*), colin (*Pollachius virens*), sole (*Solea solea*), thon (*Thunnus thynnus*), merlan (*Merlangius merlangus*), ormeau (*Haliotis tuberculata*), pétoncle (*Chlamys varia*), palourde (*Ruditapes decussates*), clam (*Mercenaria mercenaria*), coque (*Cerastoderma edule*), bigorneau (*Littorina littorea*), crabe ou tourteau (*Cancer pagurus*), seiche (*Sepia officinalis*), telline (*Donax Trunculus*), coquille Saint-Jacques (*Pecten maximus*), pinaire (*Venus verrucosa*), patelle (*Patella vulgata*), homard (*Homarus gammarus*), moule (*Mytilus edulis*), poulpe (*Octopus vulgaris*), huître (*Crassostrea gigas*), vanneau (*Aequipecten opercularis*), langoustine (*Nephrops norvegicus*), oursin (*Paracentrotus lividus*), crevette, bouquet ou gambas (*Palaemon serratus*), cigale de mer (*Scyllarus arctus*, *Scyllarides latus*), araignée de mer (*Maia squinado*), langouste (*Palinurus mauritanicus*), calmar ou encre (*Loligo vulgaris*), étrille (*Portunus puber*), bulot ou buccin (*Buccinum undatum*)

*quartiles de consommation de PTG : faible (<105 g/semaine, soit <1 portion/semaine), modérée (105 à 180 g/semaine, soit 1 portion/semaine), élevée (180-315 g/semaine, soit 1 à 2 portions/semaine) et très élevée (>315 g/semaine, soit >2 portions/semaine) ; †Significativité des tests ;

‡moyenne ± écart-type.

Analyses sanguines et profil d'acides gras des hématies

Il n'y a pas de différence significative entre les sujets des quatre quartiles concernant les triglycérides, le cholestérol total, le HDL-cholestérol ni le LDL-cholestérol, bien que le test pour le HDL-cholestérol soit proche de la significativité (Tableau 17). Il n'y a pas non plus de différence significative concernant la teneur érythrocytaire en EPA, DPA, ni pour les autres acides gras considéré séparément.

En revanche, il y a une différence significative entre quartiles pour la teneur en DHA ($P = 0,012$) et la somme EPA+DHA dans les hématies ($P = 0,008$). Bien que 64% des sujets atteignent le seuil de 4% d'EPA+DHA dans leurs hématies, seuls 5% ($n = 18$) atteignent le seuil des 8%.

Tableau 17. Paramètres sanguins et teneurs en acides gras de la membrane des hématies, selon le quartile de consommation de poisons très gras (PTG)

	Ensemble de la population (n=382)	Quartiles de consommation de PTG*				P
		Q1 (n=95)	Q2 (n=98)	Q3 (n=93)	Q4 (n=96)	
Triglycérides, g/L†	1,01 ± 0,89	0,98 ± 0,53	0,95 ± 0,47	0,98 ± 0,59	1,15 ± 1,51	0,987
Cholestérol total, g/L†	2,12 ± 0,39	2,08 ± 0,39	2,09 ± 0,39	2,17 ± 0,41	2,14 ± 0,39	0,392
HDL-cholestérol, g/L†	0,59 ± 0,17	0,56 ± 0,15	0,61 ± 0,15	0,61 ± 0,19	0,60 ± 0,16	0,057
Total cholestérol/HDL-cholestérol†	3,80 ± 1,16	3,97 ± 1,19	3,61 ± 0,97	3,84 ± 1,16	3,82 ± 1,35	0,163
LDL cholestérol†	1,34 ± 0,35	1,34 ± 0,36	1,30 ± 0,34	1,38 ± 0,37	1,34 ± 0,33	0,443
AG érythrocytaire, % total						
C16:0	20,8 ± 2,4	20,9 ± 2,4	20,7 ± 2,2	20,8 ± 2,6	20,9 ± 2,5	0,994
C18:0	24,8 ± 6,4	24,3 ± 6,7	25,3 ± 6,9	24,6 ± 6,2	25,1 ± 6,1	0,543
AGS totaux	47,9 ± 7,9	47,5 ± 8,3	48,2 ± 8,1	47,7 ± 7,4	48,3 ± 7,7	0,780
C18:1 n-9	14,6 ± 2,9	14,9 ± 2,7	14,4 ± 2,9	14,8 ± 3,0	14,5 ± 3,0	0,323
AGMI totaux	17,7 ± 3,4	18,0 ± 3,1	17,4 ± 3,6	17,9 ± 3,6	17,5 ± 3,4	0,332
C18:2 n-6 (LA)	11,6 ± 4,0	12,3 ± 4,5	11,3 ± 3,9	11,5 ± 3,6	11,3 ± 3,9	0,237
C20:4 n-6 (AA)	11,4 ± 3,3	11,4 ± 3,5	11,6 ± 3,1	11,4 ± 3,4	11,3 ± 3,1	0,972
AGPI n-6 totaux	27,3 ± 5,4	28,1 ± 6,1	27,3 ± 5,1	27,1 ± 5,2	26,7 ± 5,1	0,139
C18:3 n-3 (ALA)	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,525
EPA	0,74 ± 0,37	0,66 ± 0,30	0,71 ± 0,31	0,79 ± 0,44	0,81 ± 0,40	0,076
DPA	1,70 ± 0,61	1,63 ± 0,59	1,73 ± 0,60	1,71 ± 0,66	1,73 ± 0,60	0,672
DHA	4,03 ± 1,66	3,53 ± 1,44	4,10 ± 1,67	4,22 ± 1,74	4,27 ± 1,72	0,012
EPA+DHA	4,77 ± 1,88	4,19 ± 1,61	4,81 ± 1,87	5,02 ± 1,96	5,08 ± 1,96	0,008
AGPI n-3 totaux	6,7 ± 2,3	6,1 ± 2,1	6,8 ± 2,3	7,0 ± 2,5	7,0 ± 2,4	0,023
LA/ALA	61,3 ± 35,9	60,8 ± 34,5	62,4 ± 46,7	62,2 ± 31,0	60,5 ± 30,0	0,895
Total AGPI n-6/n-3	4,6 ± 1,7	5,1 ± 1,8	4,5 ± 1,6	4,4 ± 1,8	4,3 ± 1,7	<0,001

*quartiles de consommation de PTG : faible (<105 g/semaine, soit <1 portion/semaine), modérée (105 à 180 g/semaine, soit 1 portion/semaine), élevée (180-315 g/semaine, soit 1 à 2 portions/semaine) et très élevée (>315 g/semaine, soit >2 portions/semaine) ; †moyenne ± écart-type.

Modèles de régressions linéaires multiples

En utilisant une fonction splines cubiques restreints à 3 nœuds, l'apport d'EPA via la consommation de produits de la mer est linéairement associée à la teneur en EPA dans les hématies (P association globale = 0,009, P association non-linéaire = 0,971). Les apports de DHA et d'EPA+DHA en revanche ne sont pas associés aux teneurs en DHA et EPA+DHA dans les hématies (P association globale = 0,180 et $P = 0,098$, respectivement). La consommation de poissons très gras apparaît comme n'étant pas significativement associée à la teneur en EPA dans les hématies (P association globale = 0,108), alors qu'elle est significativement associée à la teneur en DHA dans les hématies (P association globale = 0,031, P association non linéaire = 0,159).

En utilisant une fonction splines cubiques restreints à 4 nœuds, la consommation de poissons très gras apparaît comme significativement associée à la teneur en EPA+DHA dans les hématies ($P = 0,021$) (Tableau 18). Bien que le test d'association non-linéaire ne soit pas significatif ($P = 0,147$), la Figure 8 montre une relation dose-réponse bi-phasique entre la consommation de poissons très gras et la teneur en EPA+DHA des hématies, avec une forte croissance lorsque la consommation de poissons très gras est inférieure à 200 g/sem, suivie d'un plateau pour une consommation plus élevée. En comparaison avec les sujets ne consommant pas du tout de poissons très gras, ceux consommant 100 g poissons très gras/sem (+0,65%), 200 g poissons très gras/sem (+0,93%), 300 g poissons très gras/sem (+0,93%), et 400 g poissons très gras/sem (+0,93%) présentent une concentration d'EPA+DHA dans leurs hématies significativement plus élevée (Tableau 18).

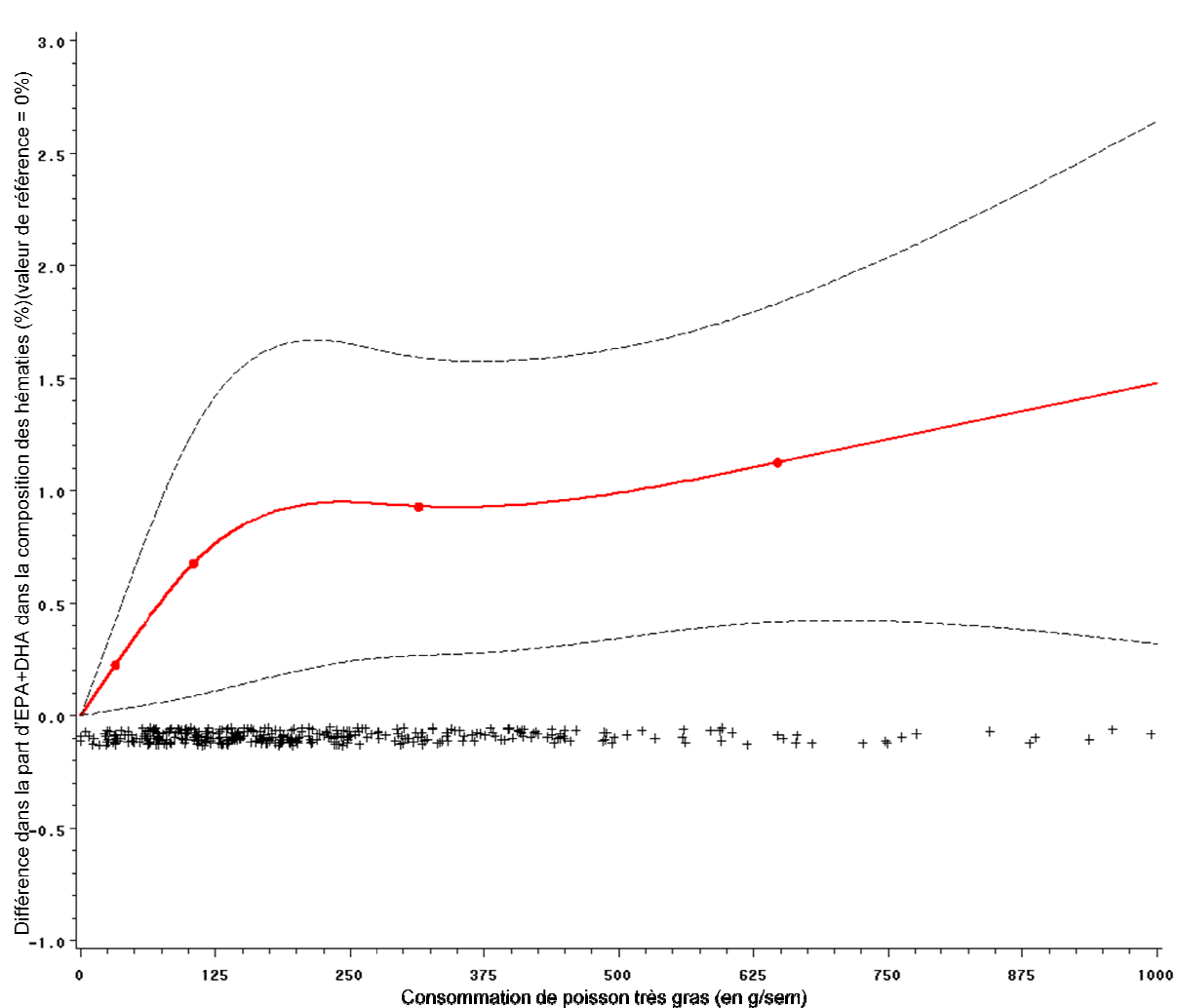
Le sexe, le statut tabagique, le site d'étude, le statut socioéconomique et la consommation d'alcool sont significativement associés à la teneur en EPA+DHA des hématies (Tableau 18). En revanche, la consommation de viande, d'autres produits de la mer et de charcuterie ne le sont pas. Chez les femmes, la teneur en EPA+DHA des hématies est significativement plus élevée que chez les hommes (+0,42%, $P = 0,042$).

Les gros fumeurs (-1,00%, $P = 0,002$), les petits fumeurs et les anciens fumeurs (bien que non significatif) ont également une concentration en EPA+DHA des hématies plus basse, comparée à celle des non fumeurs (-0,42%, $P = 0,063$, et -0,25%, $P = 0,271$, respectivement).

Les sujets se classant dans les catégories de statut socioéconomique bas et moyen ont une teneur en EPA+DHA des hématies plus basse que celle des sujets de statut socioéconomique élevé ($P = 0,001$ et $P = 0,019$ respectivement). L'âge apparaît comme n'étant pas significativement associé à la teneur en EPA+DHA des hématies ($P = 0,018$). La teneur en EPA+DHA augmente avec l'âge jusque 55 ans environ, puis décroît. Il est à noter que l'interaction entre l'âge et la consommation de poissons très gras n'est pas significative ($P = 0,36$).

Tableau 18. Différence dans la teneur moyenne en EPA+DHA des hématies (% acides gras totaux)

	Différence	IC à 95%	P, association globale	P, association non-linéaire
Consommation de PTG			0,021	0,147
0 g/sem	0			
100 g/sem	0,65	[0,08 ; 1,22]		
200 g/sem	0,93	[0,20 ; 1,66]		
300 g/sem	0,93	[0,26 ; 1,60]		
400 g/sem	0,93	[0,29 ; 1,58]		
500 g/sem	0,99	[0,34 ; 1,63]		
Site d'étude				
Lorient	0			
Le Havre	0,76	[0,29 ; 1,22]	0,002	
La Rochelle	1,30	[0,86 ; 1,74]	<0,001	
Toulon	-0,51	[-0,95 ; -0,06]	0,026	
Femme vs. homme	0,42	[0,02 ; 0,83]	0,042	
Statut tabagique				
Non fumeur	0			
Ancien fumeur	-0,18	[-0,62 ; 0,25]	0,408	
Petit fumeur	-0,42	[-0,86 ; -0,02]	0,063	
Gros fumeur	-1,00	[-1,62 ; -0,37]	0,002	
Consommation d'autres produits de la mer			0,920	0,939
500 g/sem	0			
600 g/sem	-0,01	[-0,07 ; 0,04]		
700 g/sem	-0,02	[-0,12 ; 0,08]		
Statut socio-économique				
Elevé	0			
Moyen	-0,46	[-0,84 ; -0,08]	0,019	
Bas	-0,68	[-1,09 ; -0,27]	0,001	
Consommation d'alcool (g éthanol/sem)			0,022	0,043
0 (0 verre/jour)	0			
70 (1 verre/jour)	0,63	[0,17 ; 1,09]		
140 (2 verres/jour)	0,72	[0,21 ; 1,24]		
Age			0,018	0,031
20 ans	-0,62	[-1,07 ; -0,18]		
35 ans	0			
50 ans	0,32	[0,09 ; 0,55]		
75 ans	-0,05	[-0,62 ; 0,71]		
Consommation de viandes			0,578	0,566
0 g/sem	0			
150 g/sem	-0,08	[-0,27 ; 0,11]		
300 g/sem	-0,16	[-0,54 ; 0,21]		
Consommation de charcuterie			0,219	0,182
0 g/sem	0			
150 g/sem	-0,71	[-1,53 ; 0,10]		
300 g/sem	-0,82	[-1,74 ; 0,10]		



La ligne continue en rouge représente l'estimation de la différence de teneur en EPA+DHA des hématies, avec une consommation de poissons très gras de 0 g/sem comme valeur de référence. Les lignes en pointillés représentent l'intervalle de confiance à 95% autour de cette estimation. Les points représentent les nœuds. Chaque « + » le long de l'axe des abscisses représente une observation de consommation de poissons très gras.

Figure 8. Association entre la teneur en EPA+DHA des hématies (% des acides gras totaux) et la consommation de poisson très gras (en g/sem).

4.5 Etude 4. Consommations alimentaires et apports nutritionnels chez des consommateurs réguliers de produits de la mer au regard des recommandations nutritionnelles

Food and nutrient intakes of French frequent seafood consumers with regard to fish consumption recommendations: results from the CALIPSO study. V Sirot, C Dumas, JC Leblanc, I Margaritis. *British Journal of Nutrition*. In press (Annexe 5).

L'objectif de cette quatrième étude est d'évaluer la contribution des produits de la mer et des autres aliments aux apports nutritionnels de consommateurs réguliers de produits de la mer, en évaluant leurs consommation, au regard des valeurs de référence françaises : apports nutritionnels conseillés, besoins nutritionnels moyens, et limite de sécurité. Ainsi seront identifiés les éventuels dépassements de limites de sécurité liés à la consommation de produits de la mer et les nutriments pour lesquels ces mêmes produits peuvent contribuer à réduire les risques d'insuffisance d'apports.

4.5.1 Matériel et méthode

Sujets et données collectées

Les 996 consommateurs réguliers de produits de la mer de l'étude Calipso (2004) (Leblanc, 2006) ont été inclus dans cette Etude 4. Les critères de sélection des sites d'étude et d'inclusion des sujets, et la méthodologie de recueil des consommations alimentaires, en particulier pour les produits de la mer, sont décrites dans les Etudes 1 et 2 (voir 4.1 et 4.3), ainsi que dans Bemrah et al., 2009 (Sirot et al., 2008a, Bemrah et al., 2009, Sirot et al., 2009).

Evaluation des consommations alimentaires

Pour chaque sujet de l'étude, un questionnaire de fréquence alimentaire de 201 items a été rempli par un enquêteur formé à cet effet. Il n'y avait donc aucune donnée manquante.

Pour les produits de la mer ($n = 83$), les consommations ont été estimées en combinant la fréquence de consommation enregistrée pour chaque produit à la portion moyenne habituellement consommée par le sujet. Huit fréquences différentes étaient proposées : de « jamais » à « une fois par jour et plus ». Les portions moyennes ont été estimées à l'aide d'un cahier photographique (LeMoullec et al., 1996). Le détail des espèces consommées est présenté dans l'article de Bemrah et al (Bemrah et al., 2009).

Les autres aliments étaient regroupés en 14 groupes (Tableau 10, Etude 2) et 118 items. Pour chaque item, la fréquence de consommation enregistrée a été combinée à une taille de portion moyenne issue de l'enquête INCA1 (Volatier, 2000) ainsi qu'il est recommandé par la littérature (Cade et al., 2002).

L'offre et la demande sont connues pour avoir un impact sur la saisonnalité de la consommation des produits conduisant parfois à un biais en termes de déclaration de consommation (Joachim, 1997, Shu et al., 2004). Aussi, afin d'affiner les données de consommation pour les fruits et légumes, qui sont des produits saisonniers, il a été considéré que les fréquences reportées dans le questionnaire alimentaire étaient représentatives, non pas de la consommation sur l'année, mais de la consommation durant les périodes de disponibilité des produits sur le marché. Aussi les fréquences ont-elles été pondérées par la période de disponibilité pour évaluer la consommation moyenne mensuelle (Joachim, 1997, Carriere et al., 2007) : fruits secs, banane, compotes, légumes secs, haricots, petits pois, carotte, navet, radis, betterave, chou-fleur, brocoli, artichaut, champignons : 12 mois/12 ; poireau, oignon, asperge, pomme, poire : 10 mois/12 ; salades, endive, épinards : 8 mois/12 ; orange, mandarine, pamplemousse, tomate : 5 mois/12 ; courgette, aubergine, poivron : 4 mois/12 ; fruits rouges, melon, pastèque, ananas, kiwi : 3 mois/12 ; abricot, pêche, nectarine, raisin, prune, cerise: 2 mois/12 (Consodurable, 2010).

Calcul des apports nutritionnels

Les apports nutritionnels ont été évalués pour 33 nutriments pour lesquels la composition nutritionnelle était disponible : glucides totaux, amidon, sucres, protéines, lipides totaux, AGPI, acides gras monoinsaturés (AGMI), acides gras saturés (AGS), fibres, calcium, cuivre, magnésium, sodium, potassium, fer, iode, manganèse, phosphore, sélénium, zinc, rétinol, bêta-carotène, vitamine A totale, vitamines B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₉, B₁₂, C, D et E.

Afin d'estimer la composition nutritionnelle moyenne de chaque item du questionnaire de fréquence de l'étude Calipso, chacun de ces items a été relié à un ou plusieurs items de la table de composition nutritionnelle française (AFSSA-CIQUAL, 2008). Chaque item du questionnaire de fréquence a été relié à 1 ou plus (maximum 31) items de la table de composition nutritionnelle. Ainsi, sur les 1342 aliments de la table de composition, 1018 ont été rapprochés des items du questionnaire de Calipso. La concentration en nutriments de chaque item du questionnaire a été calculée comme étant la moyenne de concentration des aliments correspondant dans la table de composition, pondérée par la consommation de chacun de ces aliments par la population générale (AFSSA, 2009k). Aussi l'hypothèse suivante a été formulée : la contribution relative de chaque item dans la consommation totale d'un groupe d'aliments du questionnaire n'est pas significativement différente entre la population étudiée et la population générale.

La composition nutritionnelle de chaque item du questionnaire alimentaire a donc été calculée selon la formule suivante :

$$C_{i,j} = \sum_{k=1}^n (C_{i,j,k} \times P_{i,k} / k)$$

Où

- $C_{i,j}$ est la teneur en nutriment j de l'item i (g, mg ou µg/100 g de poids frais) ;
- n est le nombre d'aliments de la table de composition nutritionnelle correspondant à l'item i du questionnaire ;
- $C_{i,j,k}$ est la teneur en nutriment j de chaque aliment k de la table de composition nutritionnelle correspondant à l'item i (g, mg ou µg/100 g) ;
- $P_{i,k}$ est la part de la consommation (%) dans la population française, de l'aliment k parmi les n aliments correspondant à l'item i.

Les produits de la mer étant peu représentés dans la table de composition nutritionnelle, deux sources de données complémentaires ont été utilisées pour les espèces consommées dans l'étude. Dans un premier temps, le recours aux données de composition « Nutraqua » disponibles sur le site internet <http://nutraqua.com/>. Ce site du Pôle Filière Produits Aquatiques, pour lequel l'AFSSA a contribué, détaille la composition nutritionnelle de près de 50 produits de la mer débarqués et consommés en France. L'alternative choisie pour les espèces restant a été la base de données de composition nutritionnelle américaine, l'USDA National Nutrient Database for Standard Reference, en privilégiant la composition d'espèces dont l'origine était l'Atlantique (USDA, 2009). Le recours à cette source de données a été dans un premier temps validé par comparaison qualitative des données de composition pour les espèces communes à cette base et à la table de composition nutritionnelle française. Pour les espèces communes, si la plupart des composants dosés montrent des concentrations de mêmes ordres de grandeur, quelques différences importantes (>100%) ont été notées dans la composition lipidique (totale et répartition entre AGS, AGPI et AGMI) du merlan ou encore de l'églefin.

La source de données « Nutraqua » a permis de renseigner 39% des espèces manquantes. La base américaine a ensuite renseigné 26% des espèces manquantes.

Les apports en nutriments ont ensuite été calculés pour chaque individu en sommant ses apports, correspondant aux produits de la composition de chaque item du questionnaire multipliée par sa consommation, selon la formule suivante :

$$A_j = \sum_{i=1}^m (C_{i,j} \times CO_i / 100)$$

Où

- A_j est l'apport en nutriment j pour l'individu concerné (g, mg ou µg/j) ;
- $C_{i,j}$ est la teneur en nutriment j de l'item i du questionnaire (g, mg ou µg/100 g) ;
- m est le nombre d'items du questionnaire ;
- CO_i est la consommation de l'item i du questionnaire pour l'individu concerné (g/j).

Les apports nutritionnels via l'eau de boisson ont été considérés comme étant égaux à ceux de la population générale. Ainsi, comme la consommation d'eau n'est pas correctement évaluée par le questionnaire de fréquence, les apports moyens en calcium, magnésium et sodium via l'eau de

boisson estimés dans l'étude de l'alimentation totale française (Leblanc et al., 2005) ont été ajoutés à l'apport de chaque sujet.

La contribution moyenne de chaque groupe d'aliments à l'apport total de chaque nutriment a été calculée selon la formule suivante :

$$K_{i,j} = \prod_{\text{ensemble des sujets}} (A_{j,i} / AT_j) \times 100$$

Où

- $K_{i,j}$ est la contribution du groupe d'aliments i à l'apport de nutriment j (%) ;
- A_j est l'apport en nutriment j via la consommation du groupe d'aliments i pour le sujet considéré (g, mg ou $\mu\text{g/j}$) ;
- AT_j est l'apport total de nutriment j pour le sujet considéré (g, mg ou $\mu\text{g/j}$).

Analyses statistiques

Les consommations sont présentées séparément pour les hommes et les femmes, sous la forme de moyennes et écarts-types (ET).

Les apports moyens de nutriments sont présentés ($\pm$ ET), ainsi que les faibles et forts percentiles (P25 et P95). Les prévalences d'inadéquation d'apport (ainsi que leur intervalle de confiance à 95% ($IC_{95\%}$)) ont été calculées comme étant le pourcentage d'individus dont l'apport était inférieur au besoin moyen estimé (BNM) de la façon suivante (Touvier et al., 2006) : $0,77 \times$ apport journalier recommandé (ANC) pour tous les nutriments, excepté pour le magnésium, la vitamine B_6 et B_{12} ($BNM = 0,83 \times ANC$), les folates ($BNM = 0,71 \times ANC$), et la vitamine D compte tenu de sa synthèse endogène. Les ANC français (Martin et al., 2001) et autres références françaises (AFSSA, 2002c, AFSSA, 2007a, AFSSA, 2010a) le cas échéant ont été utilisées. Les valeurs correspondant pour les hommes et les femmes ont été utilisées, pour la tranche d'âge étudiée (18-81 ans).

Le pourcentage de dépassement des limites de sécurité fixées par l'EFSA (EFSA, 2006b) a également été calculé pour chaque nutriment, ainsi que l' $IC_{95\%}$ autour de celui-ci.

Les variables catégorielles ont été comparées entre hommes et femmes par des tests du χ^2 et de Fisher. Les consommations et apports moyens ont été comparés par des tests de Student entre hommes et femmes au sein de l'étude, et avec les consommations et apports de la population générale française INCA2 (AFSSA, 2009k).

Les potentiels sur et sous-déclarants ont été identifiés à l'aide du seuil d'apport énergétique défini par Goldberg (Goldberg et al., 1991, Black, 2000). Le métabolisme de base a été calculé à l'aide des équation de Schofield pour chaque sujet de l'étude, en utilisant son âge, sexe, taille et poids (Schofield, 1985). Le coefficient de variabilité intra-individuelle de l'équation de Schofield a été considéré comme égal à zéro dans la mesure où le mode de recueil des données était un questionnaire de fréquence alimentaire. Parmi les sujets, 14% et 27% ont été identifiés comme potentiels sous et sur-déclarants, respectivement. Plus précisément, 20% des hommes et 12% des

femmes ont été identifiés comme potentiels sous-déclarants, et 19% des hommes et 30% des femmes ont été identifiés comme potentiels sur-déclarants. Cependant, ils n'ont pas été exclus de l'étude afin de conserver les possibles faux sur-déclarants (les gens qui mangent plus) et les faux sous-déclarants (les sujets suivant un régime par exemple), en particulier pour le calcul des pourcentages d'inadéquation d'apports et de dépassements des limites de sécurité.

Un ajustement a été fait pour pallier les erreurs liées à la multiplication des tests : $\alpha' = 0,05/\text{nombre de tests}$.

Les analyses statistiques ont été réalisées sur SAS version 9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

4.5.2 Résultats

Consommations alimentaires

Pour chacun des groupes d'aliments le taux de consommateurs est de 100%.

Les résultats suggèrent une consommation de produits de la mer (tout type) de plus d'une portion par jour. En considérant une portion moyenne de 150 g, la consommation moyenne s'élève à 6 à 7 portions par semaine. En considérant une portion moyenne de 100 g (moyenne de consommation chez les adultes relevée ans l'étude INCA2), la consommation moyenne est de à 11 à 12 portions par semaine.

De façon générale les consommations alimentaires (Tableau 19, Figure 9) ne diffèrent pas significativement entre hommes et femmes, exceptés pour la consommation de légumes ($P < 0,0001$), de fruits ($P = 0,0016$), et de soupes ($P < 0,0001$), pour lesquels les femmes ont une consommation supérieure aux hommes.

Comparativement à la population générale (AFSSA, 2009k), les consommations des femmes sont plus élevées dans cette étude ($P < 0,0001$), excepté pour le groupe des graisses et condiments, ainsi que pour les légumes, pour lesquels les consommations moyennes ne diffèrent pas de façon significative. Dans une moindre mesure, les consommations de lait et produits laitiers, viandes et abats des hommes de l'étude sont également plus élevées que celles observées en population générale. En revanche, leurs consommations de pain et produits céréaliers et de légumes sont inférieures à celles de la population générale. Les différences les plus marquées concernent naturellement la consommation de produits de la mer, mais aussi la consommation de produits laitiers autres que le lait, pour lesquels la consommation est deux fois plus élevée dans l'étude : 204 et 234 g/j, respectivement pour les hommes et les femmes, contre 114 et 116 g/j en population générale ($P < 0,0001$).

Tableau 19. Consommations alimentaires moyennes ($\pm$ écart-type) des sujets de l'étude (g/j)

Groupes alimentaires	Hommes (n=281)	Femmes (n=710)	P*
Produits de la mer	176,66 $\pm$ 102,67	166,30 $\pm$ 97,88	0,1464
Viandes	108,29 $\pm$ 56,82	98,65 $\pm$ 54,30	0,0128
Abats	7,33 $\pm$ 14,76	5,84 $\pm$ 9,37	0,1168
Charcuterie	36,20 $\pm$ 34,49	31,45 $\pm$ 27,42	0,0388
Lait	118 $\pm$ 110	126 $\pm$ 124	0,3720
Autres produits laitiers	204 $\pm$ 141	234 $\pm$ 155	0,0038
Graisses, sauces et condiments	46,83 $\pm$ 22,94	47,26 $\pm$ 25,17	0,8026
Légumes	124,68 $\pm$ 80,24	153,27 $\pm$ 97,99	<0,0001
Fruits	164,20 $\pm$ 142,07	197,02 $\pm$ 150,13	0,0016
Soupes	104,66 $\pm$ 147,13	147,87 $\pm$ 149,57	<0,0001
Pommes de terre	74,71 $\pm$ 63,16	77,74 $\pm$ 66,20	0,5087
Pizzas, quiches et sandwiches	57,40 $\pm$ 62,54	45,72 $\pm$ 47,88	0,0049
Pains et produits céréaliers	196,46 $\pm$ 76,19	195,24 $\pm$ 76,59	0,8207
Viennoiseries, biscuits et gâteaux	87,63 $\pm$ 77,23	77,24 $\pm$ 66,86	0,0476
Boissons (hors eau)	1685 $\pm$ 1477	1401 $\pm$ 1299	0,0048

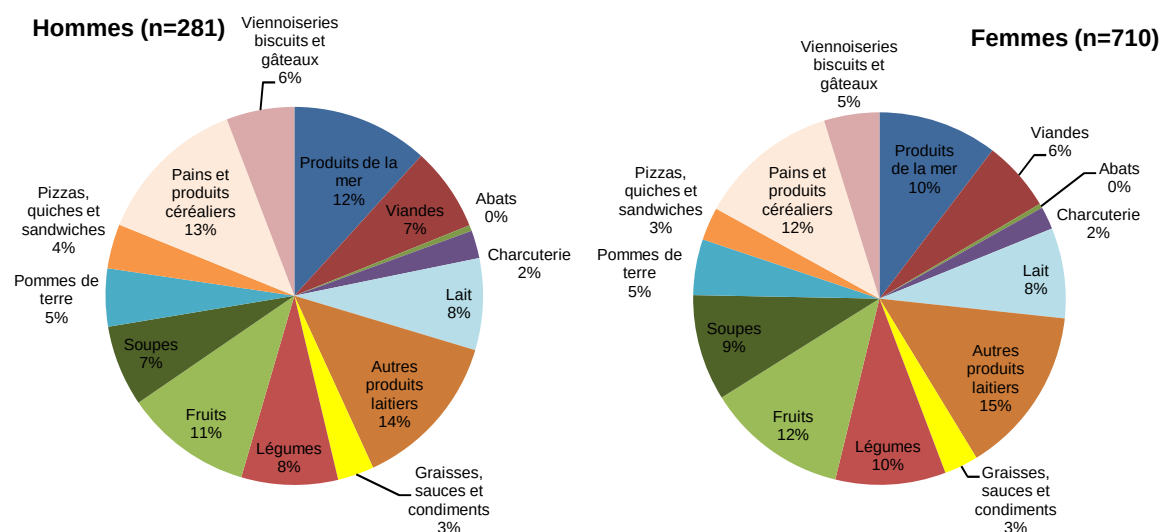


Figure 9 : Composition moyenne (%) de la ration journalière des sujets de l'étude (hors boissons)

Apports nutritionnels

L'apport énergétique total (AET) moyen s'élève à 2815 ± 1125 kcal/j chez les hommes et à 2485 ± 964 kcal/j chez les femmes (Tableau 20), contre 2500 ± 598 kcal/j et 1855 ± 426 kcal/j, respectivement, dans la population générale. Les écarts-types apparaissent très élevés du fait de la méthode de recueil des données. Les questionnaires de fréquence tendent à générer des distributions de consommation étendues, comparativement aux rappels de 24h ou aux carnets de consommation.

Les contributions respectives des macronutriments à l'AET (alcool exclu) ne respectent pas les recommandations nutritionnelles. La part des lipides est trop importante pour 41% des sujets (soit >40% de l'AET). La part des glucides est trop faible, et la part des protéines est élevée. En outre, l'apport d'AGS est trop élevé, probablement au détriment des AGMI.

Les prévalences d'inadéquation d'apports sont globalement basses (Tableau 21) et inférieures à celles observées en population générale, notamment pour l'iode, le sélénium, le zinc, le calcium, ainsi que les vitamines B₆ et B₁₂. Ces prévalences sont en général identiques chez les hommes et les femmes, excepté pour le cuivre, les vitamines A et B₁, pour lesquels la prévalence est supérieure chez les hommes, et le fer, pour lequel la prévalence est supérieure chez les femmes. En outre, les femmes ont un apport moyen de Vitamine D n'atteignant pas l'apport recommandé.

Les limites de sécurité sont dépassées significativement pour une partie de la population pour le zinc (6,2% des sujets, hommes et femmes confondus), le calcium (3,7% des sujets), le rétinol (2% des sujets) et le cuivre (0,9% des sujets). De façon générale, les sujets dépassant la limite de sécurité pour le calcium sont aussi ceux dépassant la limite de sécurité pour le zinc et ont un régime alimentaire très calorique (gros mangeurs).

Tableau 20. Apports de macronutriments, alcool et eau, comparés aux apports recommandés

	Hommes				Femmes			
	Reco	Moy ± ET	P25	P95	Reco	Moy ± ET	P25	P95
AET, kcal/j	ANC : 2500-2700	2815 ± 1125	2033	4934	2000-2200	2485 ± 964	1834	4284
AET (hors alcool), kcal/j	-	2530 ± 1038	1842	4530	-	2338 ± 936	1718	4092
Lipides, g/j	-	107 ± 45	76	204	-	102 ± 46	70	185
%AET	ANC : 35-40%*	38,3 ± 6,3	34,7	48,7	35-40%	39,0 ± 6,5	34,8	49,7
AGMI, g/j	-	38,0 ± 15,0	27,0	69,4	-	36,7 ± 16,1	25,4	65,5
%AET	ANC (pour acide oléique) : 15-20%	13,8 ± 3,0	11,9	18,8	15-20%	14,2 ± 3,3	12,0	20,2
AGPI, g/j	-	15,3 ± 7,3	10,3	27,4	-	14,7 ± 7,6	9,8	28,8
%AET	-	5,6 ± 1,8	4,4	8,4	-	5,7 ± 2,0	4,4	9,5
EPA+DHA, mg/j	ANC : 500	1290 ± 898	409	3747	500	1195 ± 825	337	2779
AGS, g/j	-	44,9 ± 22,4	29,4	93,0	-	42,2 ± 22,5	27,9	82,6
%AET	Maximum : 12%	15,7 ± 3,6	13,1	22,0	12%	15,8 ± 3,7	13,3	22,4
Glucides, g/j	-	283 ± 160	190	546	-	253 ± 128	177	473
%AET	ANC : 50-55%*	40,9 ± 8,7	35,3	56,2	50-55%	39,7 ± 8,0	34,8	53,0
Fibres, g/j	ANC : 25-30	18,1 ± 7,8	12,9	33,4	25-30	19,6 ± 7,9	14,4	33,6
Amidon, g/j	-	132 ± 48	101	219	-	126 ± 47	95	207
Sucres, g/j	-	141 ± 124	78	324	-	122 ± 100	73	267
Protéines, g/j	-	127 ± 42	95	198	-	121 ± 42	92	197
%AET	ANC : 10-27%*	20,8 ± 4,1	18,3	27,6	10-27%	21,4 ± 4,0	18,8	28,3
Alcool, g/j	-	29,3 ± 42,5	5,7	106,7	-	8,7 ± 14,1	0,6	37,3
Eau, g/j	-	2567 ± 1456	1485	5346	-	2437 ± 1332	1539	4740

Reco : recommandation ; Moy ± ET : moyenne ± écart-type ; AET : apport énergétique total (la part dans l'AET est calculée sans l'alcool) ; ANC : apport nutritionnel conseillé.

*Les recommandations concernant la part des lipides, glucides et protéines dans l'AET ont été proposées par différents groupes d'experts de l'AFSSA et correspondent à des intervalles, le centre de l'intervalle ne correspondant pas nécessairement à un apport optimal. La contribution de chaque macronutriment de chaque individu doit se situer dans les intervalles.

Tableau 21. Apports de micronutriments comparés aux apports recommandés ou aux besoins nutritionnels moyens, et aux limites de sécurité

	Hommes					Femmes					Ensemble de la population	
	Reco	Moy ± ET	P25	P95	% inadéquation [IC _{95%}]	Reco	Moy ± ET	P25	P95	% inadéquation [IC _{95%}]	Limite de sécurité	Dépassements des LS (%) et [IC _{95%}]
Calcium, mg/j	BNM : 693-924	1269 ± 621	865	2506	15,2 [11,0 ; 19,4]	693-924	1281 ± 630	886	2409	12,1 [9,7 ; 14,5]	2500	3,7 [2,5 ; 4,9]
Cuivre, mg/j	BNM : 1,155-1,54	2,2 ± 1,0	1,5	3,9	23,0 [18,1 ; 27,9]	1,155	2,1 ± 0,9	1,5	3,9	7,71 [5,4 ; 9,7]	5	0,9 [0,3 ; 1,5]
Iode, µg/j	BNM : 115,5	217 ± 80	159	352	4,6 [2,2 ; 7,0]	115,5	208 ± 79	156	359	7,4 [5,5 ; 9,3]	600	0,2 [-0,08 ; 0,5]
Fer, mg/j	BNM : 6,93-7,7	18,2 ± 7,3	13,3	32,1	0,0	6,92-12,32	16,4 ± 6,4	12,1	28,1	18,4 [15,5 ; 21,3]		
Magnésium, mg/j	BNM : 332-348,6	441 ± 176	317	763	37,5 [31,8 ; 43,2]	298,8-332	407 ± 157	303	685	25,5 [22,3 ; 28,7]		
Manganèse, mg/j	-	3,6 ± 1,5	2,6	6,8		-	4,1 ± 2,2	2,8	8,2			
Phosphore, mg/j	BNM : 577,5-616	1852 ± 637	1388	2994	0,0	577,5-616	1769 ± 646	1344	2915	0,0		
Potassium, mg/j	Besoin minimal : 390-585	4140 ± 1582	3053	7136		390-585	4010 ± 1449	3068	6729			
Sélénium, µg/j	BNM : 46,2-61,6	89,6 ± 34,0	66,1	155,1	5,3 [2,7 ; 7,9]	38,5-61,6	84,9 ± 33,6	61,4	147,9	4,5 [3,0 ; 6,0]	300	0,1 [-0,1 ; 0,3]
Sodium, mg/j	Valeur guide : 3149	4456 ± 1422	3462	7352		3149	4272 ± 1497	3384	6849			
Zinc, mg/j	BNM : 8,47-9,24	15,8 ± 5,8	11,8	26,7	7,4 [4,3 ; 10,5]	7,7-9,24	14,8 ± 5,9	10,7	25,2	5,9 [4,2 ; 7,6]	25	6,2 [4,7 ; 7,7]
Vitamine A, µg/j	BNM* : 539-616	1352 ± 1179	762	2808	13,1 [9,2 ; 17,0]	462	1312 ± 802	842	2731	3,1 [1,8 ; 4,4]		
Beta-carotène, µg/j	-	2565 ± 1492	1497	5637		-	3064 ± 1664	1902	6384			
Rétinol, µg/j	-	924 ± 1120	399	2274		-	802 ± 698	400	2139		3000	2,0 [1,1 ; 2,9]
Vitamine B ₁ , mg/j	BNM : 0,924-1,001	1,5 ± 0,6	1,1	2,6	20,1 [15,4 ; 24,8]	0,847-0,924	1,5 ± 0,6	1,1	2,5	7,9 [5,9 ; 9,9]		
Vitamine B ₂ , mg/j	BNM : 1,232	2,8 ± 1,3	1,9	5,2	2,8 [0,9 ; 4,7]	1,155-1,232	2,6 ± 1,2	1,8	4,8	2,9 [1,9 ; 4,1]		
Vitamine B ₃ , mg/j	BNM : 10,78	28,2 ± 11,2	20,1	50,6	0,0	8,47	26,5 ± 10,6	19,4	44,3	0,6 [0,03 ; 1,2]		
Vitamine B ₅ , mg/j	BNM : 3,85	7,9 ± 3,5	5,5	14,6	3,9 [1,6 ; 6,2]	3,85	7,4 ± 3,1	5,3	13,3	5,2 [3,6 ; 6,8]		
Vitamine B ₆ , mg/j	BNM : 1,494-1,826	2,5 ± 0,9	1,8	4,1	10,2 [6,7 ; 13,7]	1,245-1,826	2,4 ± 0,9	1,8	3,9	6,3 [4,5 ; 8,1]	25	0,0
Vitamine B ₉ , µg/j	BNM : 234,3-284	361 ± 153	254	644	19,4 [14,8 ; 24,0]	213-284	366 ± 145	271	632	12,5 [10,1 ; 14,9]		
Vitamine B ₁₂ , µg/j	BNM : 1,992-2,31	12,9 ± 8,2	8,2	26,8	0,0	1,992-2,31	11,7 ± 6,9	7,1	24,3	0,1 [-0,1 ; 0,3]		
Vitamine C, mg/j	BNM : 84,7-92,4	123 ± 105	62	346	41,3 [35,5 ; 47,1]	84,7-92,4	114 ± 89	66	251	40,1 [36,5 ; 43,7]		
Vitamine D, µg/j	ANC : 5-15	5,1 ± 2,8	3,1	11,1	NA†	5-15	4,8 ± 3,4	2,8	10,4	NA†	50	0,1 [-0,1 ; 0,3]
Vitamine E, mg/j	BNM : 9,24-38,5‡	12,2 ± 5,2	8,4	22,1	35,0 [29,4 ; 40,6]	9,24-38,5‡	12,4 ± 5,9	8,4	24,1	35,3 [31,8 ; 38,8]	300	0,0

Moy ± ET : Moyenne ± écart-type ; Reco : recommandation ; ANC : apport nutritionnel conseillé ; BNM : besoin nutritionnel moyen.

*correspond au BNM pour la vitamine A totale ; †non applicable ; ‡38,5 mg/j correspond à une valeur maximale définie pour les personnes âgées (>75 ans) mais ne fait pas consensus.

Contributions aux apports nutritionnels

Les produits de la mer apparaissent comme étant le second contributeur à l'apport d'AGPI après les graisses et sauces, et avant les viandes (Tableau 22), ce qui est majoritairement attribuable aux poissons (Figure 10). Les contributions respectives des produits de la mer à l'apport d'AGMI et AGS sont relativement faibles (Figure 11). Ils sont le contributeur majoritaire à l'apport d'iode (41,4%, attribuable aux poissons autant qu'aux mollusques et crustacés), et de sélénium (42,9%, principalement attribuable aux poissons). Ils apparaissent également comme l'un des contributeurs majeurs à l'apport de fer (15,1% avec une contribution équivalente pour les poissons, et les mollusques et crustacés) après les produits carnés (17,1%), et comme second contributeur aux apports de magnésium et de cuivre (principalement attribuable aux mollusques et crustacés pour le cuivre), et le troisième contributeur aux apports de zinc.

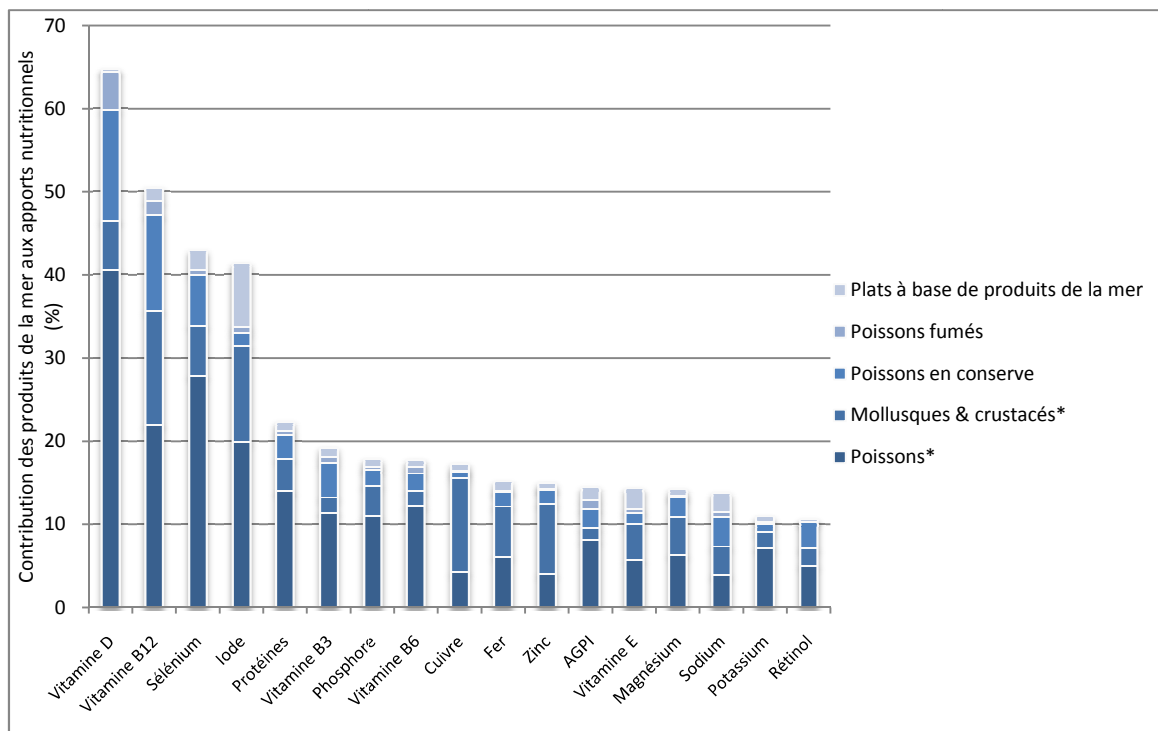
Concernant les vitamines, les produits de la mer apparaissent comme étant le contributeur majoritaire à l'apport de vitamine D (64,7%, attribuable aux poissons frais et surgelés, mais aussi aux poissons en conserve) et de vitamine B₁₂ (50,5%, attribuable aux poissons autant qu'aux mollusques et crustacés). Ce sont aussi le troisième contributeur à l'apport de vitamine B₆ (17,2%), et de rétinol, après le lait et les autres produits laitiers, et l'ensemble des produits carnés. Enfin, les produits de la mer apparaissent comme le troisième contributeur de l'apport de sodium après les condiments (dont le sel ajouté) et les pains et produits céréaliers.

Des analyses complémentaires ont été effectuées en calculant les contributions des différents groupes d'aliments aux nutriments sur une base de calcul différente. Les contributions ont été recalculées directement sur la moyenne d'apport de la population, et non de façon individuelle pour chaque sujet, afin de s'affranchir de l'influence de la variance des contributions individuelles et des valeurs extrêmes. Aucune différence importante dans les contributions n'a été obtenue entre les deux méthodes de calculs. Plus particulièrement, le rang de contribution des produits de la mer restait inchangé pour l'ensemble des nutriments.

Tableau 22. Contribution moyenne (%) de chaque groupe d'aliments aux apports nutritionnels

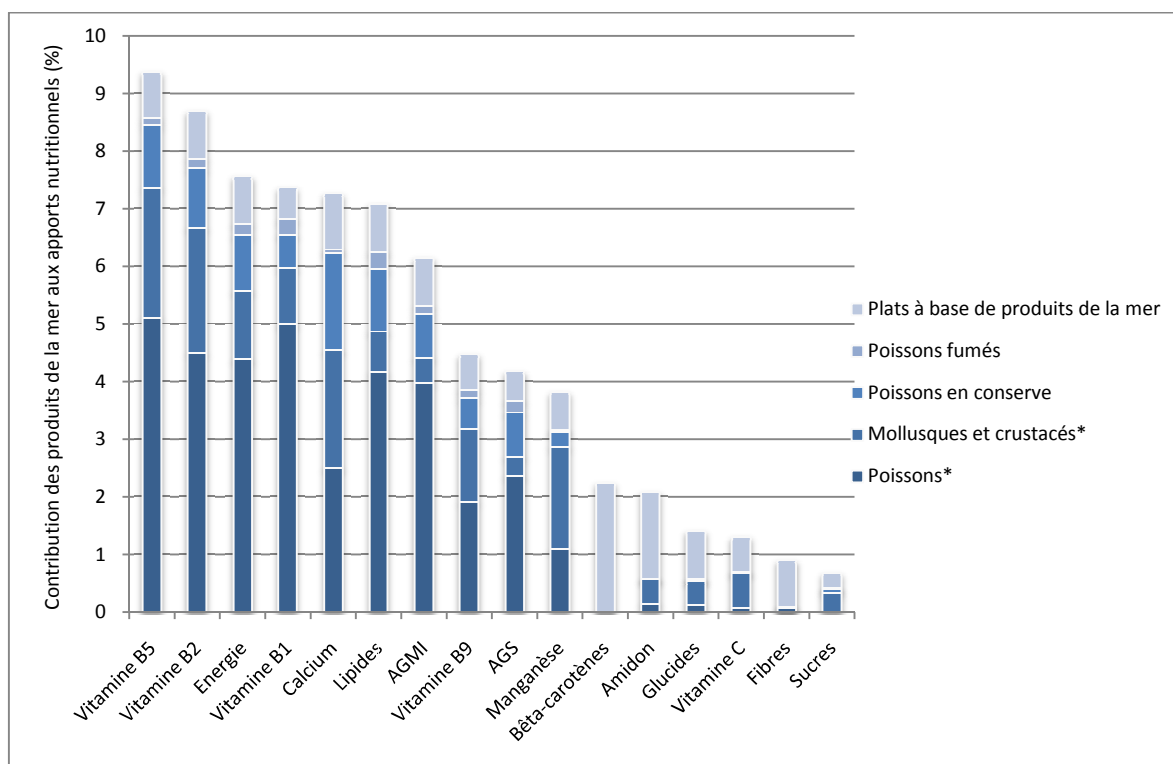
	Produits de la mer	Viandes	Abats	Chahrcuterie	Ensemble des produits carnés	Lait et produits laitiers	Graisses et condiments	Légumes	Fruits	Soupes	Pommes de terre	Pizzas, quiches, et sandwiches	Pains et produits céréaliers	Vienniseries, biscuits, et gateaux	Boissons	Eau
Energie	7,6	7,9	0,4	3,4	11,7	17,3	9,6	2,0	5,1	1,5	3,1	4,1	17,6	10,2	10,2	0,0
Lipides	7,1	10,4	0,4	6,6	17,5	25,3	25,4	0,8	2,5	1,1	1,6	5,0	3,6	9,4	0,8	0,0
AGMI	6,1	12,5	0,4	8,3	21,1	18,9	33,0	0,5	1,8	1,0	1,2	5,2	1,9	8,7	0,7	0,0
AGPI	14,4	8,3	0,3	5,5	14,1	6,4	33,0	2,6	7,6	1,9	1,1	4,0	7,2	6,9	0,7	0,0
AGS	4,2	9,7	0,4	6,4	16,5	38,2	18,2	0,3	0,8	0,8	1,5	5,1	2,2	11,4	0,8	0,0
Glucides	1,4	0,1	0,0	0,2	0,3	8,9	0,7	3,1	9,5	2,4	5,8	4,1	35,6	15,9	12,2	0,0
Fibres	0,9	0,1	0,0	0,1	0,3	1,8	1,0	21,1	18,1	3,1	7,2	4,1	29,4	7,8	5,2	0,0
Amidon	2,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,4	2,7	1,0	2,6	10,6	6,1	64,0	9,4	0,4	0,0
Sucres	0,7	0,1	0,0	0,3	0,4	19,3	1,1	4,0	19,9	2,5	0,7	1,1	4,7	23,9	21,8	0,0
Protéines	22,3	21,2	1,1	5,0	27,3	22,3	0,3	2,8	1,3	1,1	1,4	3,8	11,5	2,8	3,1	0,0
Calcium	7,3	1,3	0,1	0,5	1,9	54,6	0,8	4,8	1,5	1,9	1,1	4,2	6,2	3,6	9,9	2,3
Cuivre	17,3	4,4	5,3	2,2	11,9	6,6	1,1	7,3	6,9	2,7	4,6	1,8	22,2	5,7	11,8	0,0
Iode	41,4	3,0	0,2	1,8	5,0	28,9	1,0	1,1	0,9	2,6	1,8	2,7	5,3	2,7	6,7	0,0
Fer	15,1	12,1	1,8	3,2	17,1	6,4	1,6	9,7	3,6	2,8	2,3	3,4	14,9	7,9	15,0	0,0
Magnésium	14,2	7,1	0,2	1,6	8,9	13,0	2,4	6,1	6,4	2,6	3,5	2,3	12,4	4,7	22,4	1,0
Manganèse	3,8	0,7	0,3	0,5	1,5	2,4	0,8	7,9	12,8	2,5	2,7	2,8	30,9	6,6	25,3	0,0
Phosphore	17,8	13,9	0,8	3,6	18,4	29,2	0,8	3,8	2,3	1,2	2,5	3,5	10,8	3,6	6,1	0,0
Potassium	10,9	9,3	0,3	2,7	12,3	13,9	1,1	8,1	9,2	4,3	7,3	2,3	5,8	3,3	21,4	0,0
Sélénium	42,9	15,6	2,1	4,3	22,0	10,5	1,2	2,0	0,9	2,6	0,6	2,3	8,4	2,7	3,9	0,0
Sodium	13,7	2,6	0,3	7,6	10,5	13,6	23,2	2,7	0,1	6,9	0,5	5,5	18,5	3,2	1,4	0,3
Zinc	15,0	22,2	1,6	4,5	28,4	24,5	0,5	3,6	2,0	1,2	1,6	3,8	10,6	2,6	6,2	0,0
Beta-carotène	2,2	0,3	0,0	0,5	0,7	4,2	2,7	52,0	6,3	20,0	0,1	2,3	0,1	1,6	7,9	0,0
Rétinol	10,6	0,8	17,5	16,8	35,1	33,3	9,4	0,2	0,0	0,6	0,6	4,4	0,0	5,0	0,8	0,0
Vitamine B ₁	7,4	13,3	0,7	8,8	22,8	11,3	1,3	6,7	4,9	2,6	5,4	4,9	15,8	5,1	11,9	0,0
Vitamine B ₂	8,7	9,9	3,1	3,7	16,7	33,4	0,7	3,7	2,7	1,4	1,1	2,7	7,6	3,3	18,0	0,0
Vitamine B ₃	19,2	24,2	1,3	6,1	31,6	3,5	0,4	3,5	2,5	1,8	4,3	3,1	11,8	2,5	15,8	0,0
Vitamine B ₅	9,4	11,2	2,3	3,8	17,3	20,2	0,5	5,4	3,8	2,6	5,1	2,4	11,1	3,2	19,0	0,0
Vitamine B ₆	17,7	16,8	1,2	3,9	21,9	9,8	0,5	6,5	9,9	3,2	7,8	2,5	10,5	3,3	6,2	0,0
Vitamine B ₉	4,5	3,1	2,1	1,5	6,6	19,1	0,5	20,6	9,7	3,6	3,0	2,5	13,7	4,0	12,3	0,0
Vitamine B ₁₂	50,5	14,8	10,2	2,2	27,2	14,4	0,1	0,0	0,0	0,4	0,1	4,2	1,1	0,9	1,2	0,0
Vitamine C	1,3	1,1	0,6	1,3	3,0	2,8	0,6	17,4	25,4	3,7	10,3	1,2	2,3	2,7	29,3	0,0
Vitamine D	64,7	2,2	0,3	1,8	4,3	16,8	2,8	2,3	0,0	0,2	0,1	4,2	0,6	3,8	0,2	0,0
Vitamine E	14,3	3,4	0,3	1,0	4,7	6,7	36,8	6,0	7,6	2,0	1,1	3,2	7,5	7,6	2,5	0,0

En gras : premiers contributeurs à l'apport total.



*frais et surgelés.

Figure 10. Contribution moyenne (%) de chaque groupe de produits de la mer aux apports nutritionnels (nutriments à l'apport desquels les produits de la mer contribuent pour plus de 10%)



*frais et surgelés.

Figure 11. Contribution moyenne (%) de chaque groupe de produits de la mer aux apports nutritionnels (nutriments à l'apport desquels les produits de la mer contribuent pour moins de 10%)

4.6 Etude 5. Analyse risque/bénéfice de la consommation de produits de la mer

An approach for the risk/benefit analysis of seafood consumption. V Sirot, I Margaritis, JC Leblanc. [A soumettre].

L'objectif de cette cinquième étude est de développer une méthodologie d'analyse du risque/bénéfice de la consommation alimentaire, de l'appliquer à la consommation de produits de la mer dans la population générale française, et de déterminer une consommation optimale, satisfaisant tout ou partie des contraintes retenues concernant les apports de nutriments d'intérêt et l'exposition aux contaminants.

4.6.1 Matériel et méthode

Données et création des groupes de produits de la mer

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée sur 52 produits de la mer (sur les 82 de l'étude Calipso) (voir liste dans le Tableau 23), afin d'exclure les variables non pertinentes parmi les 24 disponibles (nutriments et contaminants). Le nombre de dimensions du système initial a ainsi été réduit, en s'assurant que les composants choisis n'étaient ni des combinaisons linéaires les uns des autres, ni fortement corrélés. Les données de composition nutritionnelle proviennent de la base de composition nutritionnelle française (AFSSA-CIQUAL, 2008), complétée pour les espèces non disponibles dans cette base par la table de composition nutritionnelle américaine (*USDA National Nutrient Database for Standard Reference*) (USDA, 2009), en privilégiant les données concernant des espèces de l'océan Atlantique. Les données de contamination proviennent de l'étude Calipso (Etudes 1 et 2, chapitres 4.1 et 4.3) (Sirot et al., 2008c, Marchand et al., 2006a, Marchand et al., 2006b, Leblanc, 2006).

La sélection de chaque composante principale s'est appuyée sur une représentativité maximale de la variabilité inter-produits. L'interprétation des axes s'est appuyée sur la matrice de corrélations.

Une classification ascendante hiérarchique (CAH) des produits a été réalisée afin de déterminer des groupes de produits similaires, s'excluant mutuellement, sur la base de leur composition nutritionnelle et de leur contamination. Les produits ont été classés en groupes différents (clusters), en fonction des différences entre leurs moyennes de composition et de contamination. L'algorithme de Ward a été utilisé afin d'identifier les clusters en sélectionnant les individus les plus proches pour minimiser la variance intra-groupe, et identifier les dissimilarités entre individus pour maximiser la variance inter-groupe. Le Cubic Clustering Criterion a été utilisé pour déterminer le nombre optimal de clusters, avec un maximum fixé à 5.

Les groupes ont été comparés par une analyse de variance associée à un test de Tukey.

Les analyses statistiques ont été réalisées sur SAS version 9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Le risque de première espèce (Alpha) a été considéré à 5%.

Sélection des contaminants et des nutriments pour l'analyse risque-bénéfice

La sélection des contaminants s'est appuyée sur l'identification de problèmes de santé publique avérés en population générale (INCA2) (ANSES, 2007), ou dans la population de forts consommateurs de produits de la mer (population de l'étude Calipso). En effet, si les produits de la mer apparaissent comme contribuant au dépassement d'une valeur toxicologique de référence ou d'une limite de sécurité chez les forts consommateurs, il convient d'être vigilant sur ce point en population générale. De même si les produits de la mer apparaissent comme un contributeur intéressant pour un nutriment dont les apports sont insuffisants en population générale, il convient d'en tenir compte.

L'arsenic sous sa forme inorganique a été sélectionné car il constitue la forme arsénisée la plus toxique pour l'homme (EFSA, 2009a). L'arsenic total comme les organoétains ne posent pas de problème de santé publique de manière générale. Le cadmium a été inclus dans l'analyse, en raison de l'abaissement en 2009 de sa VTR par l'EFSA à 2,5 µg/kg pc/sem (EFSA, 2009b). Le méthylmercure ainsi que les polluants organiques persistants (POP : dioxines et furanes, PCB, PBDE) ont été inclus en raison de leur forte toxicité et de la sensibilité particulière du fœtus à ces contaminants. Néanmoins étant donné que les POP sont lipophiles, leurs différentes concentrations sont très corrélées dans les produits de la mer (Marchand et al., 2006a, Marchand et al., 2006b). Ces corrélations ont été analysées afin de sélectionner les variables les plus pertinentes pour la réduction de dimensions.

Les nutriments ont été sélectionnés dès lors que les produits de la mer constituaient un contributeur majoritaire (>5%) et donc étaient susceptibles de faciliter l'atteinte des apports conseillés (Drewnowski, 2007). De plus, d'autres nutriments ont été sélectionnés si les apports étaient jugés insuffisants en population générale (EPA+DHA, vitamine D), si un ou plusieurs sous-groupes de la population générale ou des forts consommateurs de produits de la mer étaient identifiés comme étant à risque d'insuffisance d'apport (sélénium pour les personnes âgées), ou encore s'il existait un dépassement des limites de sécurité (LS) significativement différent de zéro parmi les forts consommateurs, potentiellement en raison de leur forte consommation de produits de la mer (zinc, cuivre, calcium) (Etude 4, chapitre 4.5). Ainsi, les nutriments suivants ont été sélectionnés : EPA+DHA, cuivre, calcium, iode, sélénium, zinc, vitamine D.

Balance risque-bénéfice

L'objectif était de calculer la consommation hebdomadaire X_i de chaque cluster de produits de la mer i déterminé par la CAH, afin de maximiser les bénéfices et minimiser les risques. Une programmation linéaire de modèles combinés a été utilisée afin de calculer la consommation optimale de produits de la mer totale et la consommation de chaque cluster de produits. Des contraintes sur le risque et le

bénéfice ont été incluses au moyen d'équations afin de s'assurer de l'atteinte des apports nutritionnels recommandés (BNM ou ANC) et du non-dépassement des valeurs toxicologiques : valeur toxicologique de référence (VTR) pour les contaminants, limite de sécurité pour les nutriments.

Dans chacune des équations suivantes :

- X_i correspond à la consommation hebdomadaire (g/sem) du cluster de produits de la mer i ;
- C_i correspond à la concentration moyenne du contaminant ou nutriment considéré du cluster i , (mg, μ g, ou pg WHO-TEQ/g poids frais) ;
- PC correspond au poids corporel du consommateur (kg).

Pour les calculs il a été considéré un poids corporel de 70 kg. Pour chaque composant, les valeurs de référence journalières ou mensuelles ont été converties en valeurs hebdomadaires (multipliée par 7 pour une valeur journalière, et par 7/30,5 pour une valeur mensuelle).

Concernant les concentrations moyennes C_i , deux scénarii ont été testés. Dans le scénario 1, il a été considéré pour la moyenne arithmétique des compositions et contaminations de l'ensemble des produits de la mer constituant le cluster. Il est donc considéré que le consommateur choisira aléatoirement une espèce dans le cluster. Dans le scénario 2, il a été considéré la moyenne des concentrations des produits, pondérées par leur consommation au sein du cluster par la population de forts consommateurs (Bemrah et al., 2009). Ce second scénario permet de tenir compte, au sein de chaque cluster, des préférences des consommateurs concernant les différentes espèces. Il a donc été considéré que les préférences étaient équivalentes dans la population de Calipso et en population générale, ce qui a été vérifié par un test du χ^2 pour les espèces communes : 70% des espèces consommées représentent la même part dans la consommation totale (Annexe 3).

Dans un second temps, l'analyse a été refaite pour les 2 scénarii sur la base des mêmes clusters de produits de la mer i , mais en séparant dans un groupe distinct les mollusques et crustacés qui ne sont jamais pris en compte dans les recommandations de consommation alimentaire et qui constituent un groupe d'aliments à part entière (AFSSA, 2009k, Dubuisson et al., 2010) : scénario 3 (moyenne arithmétique des concentrations) et scénario 4 (tenant compte des préférences alimentaires, avec pondération des concentrations par leur consommation).

Contraintes du modèle

Arsenic inorganique : L'exposition à l'arsenic inorganique de la population française adulte a été estimée en moyenne à 0,242 à 0,278 μ g/kg pc/j (hypothèses basse et haute, en fonction des hypothèses de spéciation de l'arsenic inorganique) (ANSES, en cours). Ceci équivaut à 16,9 à 19,5 μ g/j, pour un adulte de 70 kg, 1,5 à 1,7% provenant de la consommation de produits de la mer. Hors produits de la mer, l'exposition moyenne s'élève donc à 0,238-0,274 μ g/kg pc/j. Le JECFA a récemment proposé une BMDL_{0,5} de 3,0 μ g/kg pc/j (JECFA, 2010a). La marge d'exposition (MOE) pour la population française (ratio entre la BMDL et l'exposition), calculée à partir de l'exposition

moyenne, est donc de 11-13. Or une faible marge d'exposition représente une forte préoccupation de santé publique (EFSA/WHO, 2005). Il est nécessaire d'augmenter la MOE, et donc d'avoir l'exposition la plus faible possible. Cette fonction constitue la « fonction cible » ou l'« objectif » :

$$\sum_i \frac{X_i \cdot C_i}{PC} \text{ minimum}$$

Méthylmercure : Etant donné que les produits de la mer – et plus particulièrement le poisson – constituent les contributeurs majoritaires à l'exposition au méthylmercure, la totalité de la VTR la plus protectrice (JECFA, 2004) a été attribuée à l'exposition via leur consommation.

$$\sum_i \frac{X_i \cdot C_i}{PC} \leq 1,6$$

Concernant les dioxines et PCB et le cadmium, il a été considéré l'exposition moyenne de la population française à chaque contaminant, à laquelle a été retranchée l'exposition liée à la consommation de produits de la mer. Le crédit toxicologique maximal restant, correspondant à la différence entre la VTR et l'exposition hors produits de la mer, a été attribué à la consommation de produits de la mer.

PCDD/F + PCB-DL : Hors produits de la mer, l'exposition moyenne de la population générale est de 0,35 pg TEQ_{OMS98}/kg pc/j (ANSES, en cours). L'exposition via les produits de la mer ne doit donc pas excéder 1,98 pg TEQ_{OMS98}/kg pc/j (2,33-0,35), soit 13,9 pg TEQ_{OMS98}/kg pc/sem.

$$\sum_i \frac{X_i \cdot C_i}{PC} \leq 13,9$$

PCBi : Hors produits de la mer, l'exposition moyenne de la population générale s'élève à 1,22 ng/kg pc/j (ANSES, en cours). L'exposition via les produits de la mer ne doit donc pas excéder 8,78 ng/kg pc/j (10-1,22), soit 61,5 ng/kg pc/sem.

$$\sum_i \frac{X_i \cdot C_i}{PC} \leq 61,5$$

Cadmium : Hors produits de la mer, l'exposition moyenne de la population générale adulte est de 0,147 µg/kg pc/j (ANSES, en cours), soit 1,03 µg/kg pc/sem. L'exposition via les produits de la mer ne doit donc pas excéder 1,47 µg/kg pc/sem (2,5-1,03).

$$\sum_i \frac{X_i \cdot C_i}{PC} \leq 1,47$$

EPA+DHA : En France, il n'y a pas suffisamment de données sur les apports d'EPA+DHA de la population générale, mais il a été montré dans plusieurs sous-groupes de la population que les apports étaient inférieurs aux 500 mg/j recommandés (Astorg et al., 2004). De plus, dans les pays occidentaux, les produits animaux terrestres contribueraient à hauteur de 15-20% de l'apport (Astorg et al., 2004, Howe et al., 2006, Sioen et al., 2006). Ainsi, il est nécessaire que la consommation de produits de la mer apporte 85% des 500 mg/j conseillés, soit 2975 mg/sem.

$$\sum_i X_i \cdot C_i \geq 2975$$

Pour les autres nutriments, le même raisonnement que pour les contaminants a été tenu. Il a été considéré les apports totaux moyens de la population française auxquels ont été retranchés les apports liés à la consommation de produits de la mer. La différence avec le BNM, l'ANC et/ou avec la limite de sécurité a été attribuée à l'apport via la consommation de produits de la mer.

Vitamine D : Hors produits de la mer, l'apport moyen en population générale est de 1,6 µg/j (AFSSA, 2009k), pour un ANC de 5 µg/j, en tenant compte de la synthèse endogène (Garabedian, 2001). L'apport via les produits de la mer doit donc s'élever au moins à 3,4 µg/j, soit 23,8 µg/sem.

$$\sum_i X_i \cdot C_i \geq 23,8$$

Sélénium : Hors produits de la mer, l'apport moyen en population générale est estimé à 46 µg/j (AFSSA, 2009k), ce qui représente 75 à 119% du BNM (38,5 à 56,6 µg/j, selon l'âge et le sexe). Par ailleurs, les personnes âgées de plus de 75 ans sont considérées comme à risque d'insuffisance d'apports, avec une prévalence d'inadéquation de 84,2% [IC_{95%} : 71,5-96,8] (ANSES, non publiée). L'apport par les produits de la mer doit donc s'élever au moins à 25% du BNM, soit 9,6 µg/j, ou 67,375 µg/sem.

$$\sum_i X_i \cdot C_i \geq 67,375$$

Iode : Hors produits de la mer, l'apport moyen en population générale s'élève à 109 µg/j (AFSSA, 2009k). L'apport par les produits de la mer doit s'élever au moins à 6,5 µg/j, soit 45,5 µg/sem.

$$\sum_i X_i \cdot C_i \geq 45,5$$

Zinc : Hors produits de la mer, l'apport moyen en population générale s'élève à 10,3 mg/j (AFSSA, 2009k), ce qui couvre le BNM (7,7-9,24 mg/j). Par ailleurs les adultes ne sont pas considérés comme étant à risque d'insuffisance d'apports (ANSES, en cours, ANSES, non publiée). En revanche, l'EFSA ayant fixé une limite de sécurité à 25 mg/j pour les adultes (EFSA, 2006b), l'apport via les produits de la mer ne doit pas excéder 14,7 mg/j, soit 102,9 mg/sem.

$$\sum_i X_i \cdot C_i \leq 102,9$$

Calcium : Hors produits de la mer, l'apport moyen en population générale est de 900,4 mg/j (AFSSA, 2009k), ce qui couvre le BNM (693-924 mg/j). L'apport par les produits de la mer ne doit pas excéder 1600 mg/j, soit 11200 mg/sem.

$$\sum_i X_i \cdot C_i \leq 11200$$

Cuivre : Hors produits de la mer, l'apport moyen en population générale s'élève à 1,45 mg/j (AFSSA, 2009k), ce qui couvre presque le BNM (1,5-2,0 mg/j). Les adultes ne sont pas considérés comme étant à risque d'insuffisance d'apports (ANSES, en cours, ANSES, non publiée). En revanche, l'EFSA a fixé une limite de sécurité à 5 mg/j chez les adultes (EFSA, 2006b), l'apport via les produits de la mer ne doit donc pas excéder 3,55 mg/j (5-1,5), soit 24,85 mg/sem.

$$\sum_i X_i \cdot C_i \leq 24,85$$

Toutes les consommations X_i doivent être supérieures ou égales à zéro.

Par ailleurs, une contrainte additionnelle a été incluse : la consommation totale maximale de poissons gras a été fixée à 200 g/sem. Ceci permet de limiter à 200 g maximum la consommation de poissons très gras, consommation à partir de laquelle on observe un plateau dans la teneur en EPA+DHA des hématies, un biomarqueur de santé cardiovasculaire (Etude 4, chapitre 4.5). Une consommation supérieure n'entraîne donc pas de bénéfice supplémentaire en termes de marqueur de santé cardiovasculaire.

L'analyse a été réalisée à l'aide du solveur de Microsoft Excel et de LPSolve IDE v5.5.0.15 (Henri Gourvest, William Pattton, Peter Notebaert), qui utilisent la méthode simplex (www.solver.com) pour les modèles linéaires. Cet algorithme permet de déterminer une valeur cible par itérations successives sur une ou plusieurs variables, en tenant compte des contraintes imposées. Sur Microsoft Excel, la précision a été fixée à 0,0001.

4.6.2 Résultats

Sélection des variables

L'ACP réalisée sur les 24 variables confirme les corrélations existant entre certaines variables, à savoir les composants lipophiles : PCB-NDL et PCDD/F+PCB-DL ($r=0,996$), PBDE et PCDD/F+PCB-DL ($r=0,98$), PBDE et PCB-NDL ($r=0,98$), vitamine D et PCDD/F+PCB-DL ($r=0,71$), vitamine D et PCB-NDL ($r=0,70$), vitamine D et PBDE ($r=0,73$), cuivre et arsenic inorganique ($r=0,64$).

Le premier axe permet de représenter 19% de l'inertie initiale, deux axes représentent 32%. Sur ce premier axe, les PBDE, la somme PCDD/F+PCB-DL, les PCB-NDL et la vitamine D sont bien représentés, et contribuent pour 48% à la construction de l'axe. Leurs coordonnées étant positives sur cet axe, elles sont fortement corrélées. De la même façon, l'arsenic inorganique et le cuivre sont bien représentés sur l'axe 1 et l'axe 2, à la construction desquels ils contribuent pour 11 et 19% respectivement. Leurs coordonnées sont négatives sur l'axe 1, et positives sur l'axe 2.

Une seule variable pouvant donc représenter les autres sur un même axe, les variables PCDD/F+PCB-DL, PBDE, cuivre et vitamine D ont été exclues de l'analyse.

Détermination des clusters de produits

La CAH a permis de déterminer 5 clusters (Tableau 23), dont 2 ne comportant qu'une seule espèce : (1) Anguille ; (2) Maquereau fumé ; (3) Bar/loup, Maquereau frais, Rouget, Sardine fraîche, Anchois frais, Dorade, Crabe/tourteau frais, Anchois en conserve, Tarama, terrine ou mousse de poissons ; (4) Espadon, Hareng frais ou surgelé, Hareng fumé, Flétan, Saumon fumé, Saumon frais ou surgelé, Maquereau en conserve, Sardine en conserve ; (5) Grenadier, Hoki, Julienne, Limande, Merlan, Merlu, Morue, Plie, Raie, Rascasse, Baudroie/lotte, Roussette/saumonette, Sole, Tacaud/gade, Thon

frais, Cabillaud, Carrelet, Colin/lieu noir, Eglefin, Bigorneau/vigneau, Bulot/buccin, Coquille St Jacques, Homard, Huitre, Calmar, Encornet/chipiron, Langoustine, Pétoncle, Coque/rigadeau, Crevette/gambas, Moule, Poulpe, Seiche, Thon en conserve, Crabe en conserve, Haddock fumé.

Tableau 23. Part de chaque espèce ou produit* dans la consommation des clusters 3, 4 et 5, sur la base des consommations de l'étude Calipso

Cluster	Espèce ou produit	% dans le cluster
3	Maquereau frais	16.8
3	Bar ou loup	16.4
3	Dorade	16.3
3	Anchois en conserve	16.0
3	Sardine fraîche	14.1
3	Rouget	7.0
3	Crabe, tourteau frais	5.5
3	Anchois frais	4.2
3	Tarama, terrine ou mousse	3.8
4	Saumon frais ou surgelé	46.5
4	Maquereau en conserve	10.6
4	Sardine en conserve	10.0
4	Hareng frais	8.5
4	Flétan	8.3
4	Saumon fumé	7.3
4	Espadon	4.9
4	Hareng fumé	4.0
5	Cabillaud, morue	13.8
5	Colin ou lieu noir	8.4
5	Thon en conserve	6.5
5	Sole	6.3
5	Crevette, bouquet, gambas	5.9
5	Coquille St Jacques	5.8
5	Huitre	5.1
5	Thon	4.4
5	Raie	4.1
5	Merlan	3.9
5	Merlu	3.8
5	Moule	3.3
5	Julienne	3.0
5	Langoustine	2.8
5	Baudroie ou lotte	2.5
5	Calmar, encornet ou chipiron	2.5
5	Bulot ou buccin	2.2
5	Limande	2.1
5	Pétoncle	2.0
5	Carrelet, oile	1.8
5	Grenadier	1.7
5	Roussette ou saumonette	1.4
5	Seiche	1.1
5	Eglefin	1.0
5	Crabe en conserve	0.8
5	Homard	0.7
5	Poulpe	0.7
5	Bigorneau ou vigneau	0.6
5	Rascasse	0.5
5	Coque, rigadeau	0.4
5	Hoki	0.4
5	Tacaud ou gade	0.3
5	Haddock fumé	0.2

*Les espèces pour lesquelles aucune précision n'est apportée sur le mode de conservation sont considérées fraîches et surgelées.

Tableau 24. Concentrations moyennes des 5 clusters pour les contaminants et nutriments considérés

Clusters*	Sans prise en compte des préférences alimentaires					Avec prise en compte des préférences alimentaires				
	5	4	3	2	1	5	4	3	2	1
Contaminants										
As total, µg/g	8,4	2,1	5,4	2,1	0,7	6,6	2	4,3	2,1	0,7
As org, µg/g	7,7	1,8	4,9	1,9	0,6	6,1	1,7	3,9	1,9	0,6
As inorg, µg/g	0,05	0,02	0,06	0,03	0,01	0,04	0,02	0,05	0,03	0,01
MeHg, µg/g	0,1	0,15	0,08	0,04	0,31	0,1	0,08	0,09	0,04	0,31
Cd, µg/g	0,14	0,05	0,5	0	0	0,15	0,03	0,28	0	0
Pb, µg/g	0,02	0,05	0,01	0	0,02	0,02	0,04	0,02	0	0,02
PCDD/F, pgTEQ _{OMS} /g	0,1 ^a	0,4 ^{a,b}	0,7 ^b	0,3 ^{a,b}	1,5 ^b	0,1	0,5	0,7	0,3	1,5
PCB-DL, pgTEQ _{OMS} /g	0,3 ^a	1,1 ^{a,b}	2,6 ^b	1 ^{a,b}	86,8 ^c	0,2	1,3	2,9	1	86,8
PCDD/F+PCB-DL, pgTEQ _{OMS} /g	0,4 ^a	1,5 ^{a,b}	3,3 ^b	1,3 ^{a,b}	88,3 ^c	0,3	1,7	3,6	1,3	88,3
PCBi, ng/g	3,1 ^a	12,3 ^a	33,8 ^b	13,9 ^{a,b}	2257,1 ^c	2,6	13,9	38	13,9	2257,8
PBDE, ng/g	0,5 ^a	1,6 ^b	1,6 ^b	2,8 ^b	26,6 ^c	0,5	2	1,7	2,8	26,6
Nutriments										
Energie, kcal/100 g	95 ^a	158 ^b	170 ^b	227 ^b	216 ^b	97	179	168	227	216
Lipides, g/100 g	1,5 ^a	8,5 ^b	9,4 ^b	15,9 ^b	16,9 ^b	1,7	10,2	9	15,9	16,9
AGS, mg/100 g	178 ^a	3022 ^b	1513 ^c	3219 ^b	5583 ^d	209	3460	1521	3214	5585
AGMI, mg/100 g	138 ^a	2221 ^{a,b}	3602 ^b	1658 ^{a,b}	9591 ^b	193	2633	1972	1655	9593
AGPI, mg/100 g	254 ^a	5086 ^b	3473 ^b	9871 ^c	3205 ^{a,b}	266	5114	2618	9856	3206
EPA, mg/100 g	65 ^a	1145 ^b	621 ^c	2329 ^d	432 ^{a,c}	65	1107	561	2325	432
DHA, mg/100 g	110 ^a	1801 ^b	914 ^c	2283 ^b	716 ^c	121	1955	946	2280	717
EPA+DHA, mg/100 g	175 ^a	2946 ^b	1534 ^c	4612 ^d	1148 ^c	186	3062	1507	4605	1148
Glucides, g/100 g	1,3	0,3	1	0,4	0	1	0,2	0,6	0,4	0
Protéines, g/100 g	19	20	20	21	16	19	22	21	21	16
Calcium, mg/100 g	47	77	64	28	24	43	60	57	28	24
Cuivre, mg/100 g	0,26	0,1	0,27	0,1	0,05	0,19	0,08	0,17	0,1	0,05
Iode, µg/100 g	79	22	41	98	15	78	20	38	97	15
Fer, mg/100 g	1,94	0,96	1,31	0,86	0,8	1,28	0,9	1,21	0,86	0,8
Magnésium, mg/100 g	45	27	67	42	17	39	25	66	42	17
Manganèse, mg/100 g	0,1	0,05	0,07	0,1	0,1	0,08	0,03	0,06	0,1	0,1
Phosphore, mg/100 g	193	250	216	202	368	201	258	225	202	368
Potassium, mg/100 g	304	309	312	313	263	309	340	342	313	263
Sélénium, µg/100 g	36	27	29	36	28	34	24	27	36	28
Sodium, mg/100 g	242 ^a	424 ^{a,b}	1028 ^b	731 ^{a,b}	68 ^{a,b}	246	234	904	730	68
Zinc, mg/100 g	1,87	0,69	1,29	0,48	2,25	2,22	0,65	1,09	0,48	2,25
β-carotènes, µg/100 g	0	0,06	19,41	30	0	0	0,04	11,18	29,96	0
Rétinol, µg/100 g	34 ^a	21 ^a	50 ^a	43 ^a	1500 ^b	41	19	34	43	1500
Vit B ₁ , mg/100 g	0,06	0,07	0,09	0,12	0,18	0,06	0,13	0,1	0,12	0,18
Vit B ₂ , mg/100 g	0,12	0,15	0,2	0,27	0,33	0,11	0,13	0,2	0,27	0,33
Vit B ₃ , mg/100 g	2,83	5,21	5,09	8,42	3,1	3,15	5,9	5,95	8,41	3,1
Vit B ₅ , mg/100 g	0,37	0,62	0,56	0,47	0,14	0,31	0,81	0,58	0,47	0,14
Vit B ₆ , mg/100 g	0,23	0,36	0,39	0,46	0,24	0,26	0,4	0,44	0,46	0,24
Vit B ₉ , µg/100 g	3 ^a	6,6 ^{a,b}	12,6 ^b	16,4 ^{a,b}	13 ^{a,b}	4,5	8,8	10,2	16,4	13
Vit B ₁₂ , µg/100 g	4,86	6,59	8,53	9,9	2,7	4,81	5,42	8,98	9,89	2,7
Vit C, mg/100 g	0,51	0,15	0,06	0	0,5	0,2	0,16	0,06	0	0,5
Vit D, µg/100 g	0,72 ^a	8,21 ^b	2,65 ^a	4,2 ^{a,b}	30 ^c	0,86	8,01	3,25	4,19	30,01
Vit E, mg/100 g	0,88 ^a	1 ^a	1,7 ^a	1,6 ^a	6,07 ^b	0,82	1,43	1,42	1,6	6,07

*Clusters : 5 : Grenadier, Hoki, Julienne, Limande, Merlan, Merlu, Morue, Plie, Raie, Rascasse, Baudroie ou lotte, Roussette ou saumonette, Sole, Tacaud ou gade, Thon frais, Cabillaud, Carrelet, Colin ou lieu noir, Eglefin, Bigorneau ou vigneau, Bulot ou buccin, Coquille St Jacques, Homard, Huitre, Calmar, Encornet ou chipiron, Langoustine, Pétoncle, Coque, rigadeau, Crevette, bouquet, gambas, Moule, Poulpe, Seiche, Thon en conserve, Crabe en conserve, Haddock fumé ; 4 : Espadon, Hareng frais ou surgelé, Hareng fumé, Flétan, Saumon fumé, Saumon frais ou surgelé, Maquereau en conserve, Sardine en conserve ; 3 : Bar ou loup, Maquereau frais, Rouget, Sardine fraîche, Anchois frais, Dorade, Crabe ou tourteau frais, Anchois en conserve, Tarama, terrine ou mousse de poissons ; 2 : Maquereau fumé ; 1 : Anguille.

Sur une même ligne, pour le scénario 1, deux lettres différentes indiquent que les moyennes sont significativement différentes entre les clusters ($P < 0,05$).

Les différences significatives entre clusters (Tableau 24) concernent principalement les acides gras et les composés lipophiles : PCDD/F, PCB, PBDE, et vitamine D. Le cluster 4 est composé de produits gras et particulièrement riches en EPA+DHA ($P < 0,05$), également riches en vitamine D ($P < 0,05$). Le cluster 3 est composé de produits également gras, mais moins gras que ceux du cluster 4, et significativement moins riches en EPA+DHA. Ils sont néanmoins plus concentrés en dioxines et PCB, mais pas en PBDE. Ces produits sont également riches en iode et en cuivre, et un peu plus concentrés en arsenic inorganique. Le dernier cluster (cluster 5) est composé des autres poissons, relativement maigres, et des mollusques et crustacés, excepté le crabe.

Le Tableau 24 présente les concentrations moyennes des cinq clusters, pour l'ensemble des contaminants et nutriments considérés dans l'étude, et pour les scénarii 1 et 2, c'est-à-dire sans et avec prise en compte des préférences alimentaires.

Analyse risque/bénéfice et consommations optimales

Le modèle linéaire ne propose pas de solution optimale pour la fonction cible (minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique). Toutes les conditions ne peuvent être satisfaites. Les solutions intermédiaires proposées par le solveur montrent toujours une impossibilité de satisfaire la contrainte relative à l'apport en vitamine D. Ceci implique que les contraintes ne sont pas toutes compatibles entre elles. En particulier, lorsque la contrainte relative à la vitamine D est supprimée, une solution optimale est trouvée. L'apport en vitamine D constitue donc la contrainte limitante, la moins facilement atteignable.

Deux fonctions cibles ont donc été testées séparément : la maximisation de l'apport de vitamine D et la minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique. Quel que soit le scénario testé, la consommation des produits du cluster 3 est toujours nulle.

Dans le scénario 1, une même solution permet à la fois de maximiser l'apport de vitamine D et de minimiser l'exposition à l'arsenic inorganique (Tableau 25) : une consommation de 213 g/sem de poissons gras du cluster 4, et 26 g/sem de poissons maigres, mollusques et crustacés (cluster 5). Dans ce scénario, l'apport de vitamine D par les produits de la mer s'élève à 17,7 µg/sem (soit 2,5 µg/j), et l'apport total à 4,1 µg/j (

Tableau 26). L'exposition à l'arsenic inorganique s'élève quant à elle à 0,08 µg/kg ps/sem via les produits de la mer.

En ajoutant la contrainte de consommation maximale de 200 g/sem de poissons gras, la consommation optimale permettant de maximiser l'apport de vitamine D (17,7 µg/sem via les produits de la mer) est de 200 g/sem de poissons gras du cluster 4 et 75 g/sem de poissons maigres, mollusques et crustacés (cluster 5) (Tableau 25). La consommation optimale permettant de minimiser l'exposition à l'arsenic inorganique (0,08 µg/kg ps/sem via les produits de la mer) est alors différente : 200 g/sem de poissons gras du cluster 4 et 36 g/sem de poissons maigres, mollusques et crustacés.

Dans le scénario 2 tenant compte des préférences alimentaires des consommateurs (pondération des moyennes de composition et contamination par la consommation), une seule solution permet de combiner toutes les contraintes, tout en maximisant l'apport de vitamine D et minimisant l'exposition à l'arsenic inorganique : 181 g/sem de poissons gras du cluster 4, et 72 g/sem de poissons maigres, mollusques et crustacés (cluster 5). Dans ce scénario, l'apport de vitamine D par les produits de la mer est néanmoins légèrement inférieur à celui atteint par le scénario précédent (choix aléatoire d'une espèce dans les clusters) : 15 µg/sem contre 17,7 µg/sem. L'exposition à l'arsenic inorganique via les produits de la mer est également légèrement supérieure à celle obtenue dans le scénario 1 : 0,10 µg/kg pc/sem contre 0,08 µg/kg pc/sem.

Tableau 25. Résultats de la programmation linéaire pour les scénarii 1 et 2 (consommations en g/sem)

Fonction cible		Scénario 1	Scénario 2
		non prise en compte des préférences alimentaires	prise en compte des préférences alimentaires
Minimisation de l'exposition à l'As _{inorg}	Consommation	X3 = 0	X3 = 0
	optimale, g/sem	X4 = 213	X4 = 181
		X5 = 26	X5 = 72
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,08	0,10
	Vitamine D*, µg/sem	17,7	15,1
Maximisation de l'apport de vitamine D	Consommation	X3 = 0	X3 = 0
	optimale, g/sem	X4 = 213	X4 = 181
		X5 = 26	X5 = 72
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,08	0,10
	Vitamine D*, µg/sem	17,7	15,1
Minimisation de l'exposition à l'As _{inorg} + contrainte de 200g max de poissons gras/sem	Consommation	X3 = 0	X3 = 0
	optimale, g/sem	X4 = 200	X4 = 181
		X5 = 36	X5 = 72
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,08	0,10
	Vitamine D*, µg/sem	16,7	15,1
Maximisation de l'apport de vitamine D + contrainte de 200g max de poissons gras/sem	Consommation	X3 = 0	X3 = 0
	optimale, g/sem	X4 = 200	X4 = 181
		X5 = 75	X5 = 72
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,11	0,10
	Vitamine D*, µg/sem	17,0	15,1

X3 : consommation de produits du cluster 3 ; X4 : consommation de produits du cluster 4 ; X5 : consommation de produits du cluster 5.

*via la consommation de produits de la mer

Tableau 26. Apports nutritionnels et exposition aux contaminants correspondant à la solution optimale des scénarii 1 et 2 (sans la contrainte de 200 g poissons gras/sem maximum)

		Scenario 1		Scenario 2	
		Bruit de fond	Consommation de produits de la mer Régime total	Consommation de produits de la mer Régime total	
MeHg, µg/kg pc/sem	0	0,49	0,49	0,31	0,31
PCDD/F+DL-PCB, pg					
TEQ _{OMS} /kg pc/j	0,35	0,69	1,04	0,69	1,04
PCBi, ng/kg pc/j	1,22	5,48	6,70	5,51	6,73
Cd, µg/kg pc/sem	1,03	1,15	2,18	0,24	1,27
Arsenic, µg/kg pc/sem	1,79	0,08	1,87	0,10	1,89
EPA+DHA, mg/j	135	902	1038	809	945
Vitamine D, µg/j	1,6	2,5	4,1	2,2	3,8
Selenium, µg/j	46	9,6	55,6	9,6	55,6
Iode, µg/j	109	10	119	13	122
Zinc, mg/j	10,3	0,28	10,6	0,40	10,7
Calcium, mg/j	900	25	925	20	920
Cuivre, mg/j	1,45	0,04	1, 49	0,04	1,49

En considérant séparément les poissons maigres du cluster 5 et l'ensemble des mollusques et crustacés (Tableau 27), la minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique et la maximisation de l'apport de vitamine D conduisent à des solutions différentes pour les scénarii 3 et 4. Néanmoins la consommation de mollusques et crustacés est toujours égale à zéro, de même que la consommation des produits du cluster 3. La consommation optimale n'inclut que les poissons gras du cluster 4 et les poissons maigres du cluster 5.

Tableau 27. Résultats de la programmation linéaire pour les scénarii 3 et 4, avec séparation des mollusques et crustacés du cluster 5 (consommations en g/sem)

Fonction cible		Scénario 3	Scénario 4
		non prise en compte des préférences alimentaires	prise en compte des préférences alimentaires
Minimisation de l'exposition à l'As _{inorg}		X3 = 0	X3 = 0
	Consommation optimale, g/sem	X4 = 94 X5 = 117 X6 = 0	X4 = 89 X5 = 139 X6 = 0
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,07	0,07
	Vitamine D*, µg/sem	8,97	8,8
Maximisation de l'apport de vitamine D		X3 = 0	X3 = 0
	Consommation optimale, g/sem	X4 = 214 X5 = 25 X6 = 0	X4 = 91 X5 = 787 X6 = 0
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,07	0,29
	Vitamine D*, µg/sem	17,8	16,7
Minimisation de l'exposition à l'As _{inorg} + contrainte de 200g max de poissons gras/sem		X3 = 0	X3 = 0
	Consommation optimale, g/sem	X4 = 94 X5 = 117 X6 = 0	X4 = 89 X5 = 139 X6 = 0
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,07	0,07
	Vitamine D*, µg/sem	8,97	8,8
Maximisation de l'apport de vitamine D + contrainte de 200g max de poissons gras/sem		X3 = 0	X3 = 0
	Consommation optimale, g/sem	X4 = 200 X5 = 85 X6 = 0	X4 = 91 X5 = 787 X6 = 0
	As _{inorg} *, µg/kg pc/sem	0,09	0,29
	Vitamine D*, µg/sem	17,3	16,7

X3 : consommation de produits du cluster 3 ; X4 : consommation de produits du cluster 4 ; X5 : consommation de poissons maigres du cluster 5 ; X6 : consommation de mollusques et crustacés.

*via la consommation de produits de la mer

5 Synthèse des principaux résultats

Malgré les dépassements de la VTR pour le méthylmercure parmi les forts consommateurs de produits de la mer, les données d'imprégnation montrent que ces consommateurs restent en-dessous de la valeur d'imprégnation biologique à partir de laquelle le risque neurotoxique n'est pas négligeable.

Le poisson est un vecteur alimentaire important d'arsenic total, et constitue également un vecteur majoritaire d'arsenic inorganique, forme la plus toxique, chez les forts consommateurs. Les marges d'exposition à l'arsenic inorganique (pour la moyenne et le 95^e percentile) des forts consommateurs sont extrêmement faibles.

La consommation de poissons très gras engendre un bénéfice en termes de biomarqueur de santé cardiovasculaire (taux d'EPA+DHA dans la membrane érythrocytaire). Néanmoins, une consommation supérieure à 200 g de poissons très gras par semaine, en plus de la consommation d'autres produits de la mer, n'apporte pas de bénéfice supplémentaire par rapport à une consommation plus basse.

En plus de l'EPA et du DHA, les produits de la mer, incluant mollusques et crustacés, constituent des vecteurs importants de micronutriments : vitamine B₁₂ et D, sélénium, iode, et dans une moindre mesure cuivre, fer, magnésium, et zinc.

Une consommation de produits de la mer d'au moins deux portions par semaine réduit les prévalences d'inadéquation d'apports nutritionnels observés en population générale (en particulier pour le calcium, le magnésium, le fer et la vitamine C) mais est susceptible d'entraîner des dépassements significatifs des limites de sécurité (calcium, zinc, cuivre).

En population générale, une consommation de 181-213 g/sem de certains poissons gras (parmi les espèces suivantes : Espadon, Hareng frais, surgelé ou fumé, Flétan, Saumon frais, surgelé ou fumé, Maquereau en conserve, Sardine en conserve) et de 26-72 g/sem de poissons maigres, mollusques ou crustacés, permet de minimiser l'exposition à l'arsenic inorganique et de maximiser l'apport de vitamine D, tout en garantissant l'atteinte de l'ANC pour les AGPI-LC n-3, le sélénium et l'iode, et le non dépassement des VTR pour le méthylmercure, le cadmium, les dioxines et PCB, ainsi que le non dépassement des limites de sécurité pour le zinc, le calcium et le cuivre.

6 Discussion générale

6.1 Risques liés à la consommation de produits de la mer

6.1.1 Risques liés à l'exposition au méthylmercure

6.1.1.1 Exposition au méthylmercure évaluée par le questionnaire de fréquence

Pour plus d'un tiers des forts consommateurs (35% des sujets), l'exposition au méthylmercure calculée avec le questionnaire de fréquence dépasse la valeur toxicologique de référence du JECFA de 1,6 µg/kg pc/sem (Etude 1, chapitre 4.1). Parmi eux, 32% sont des femmes en âges de procréer, la population la plus sensible au regard de la toxicité pour le fœtus. S'appuyant sur les mêmes études et le même modèle pharmacocinétique que le JECFA, l'US-EPA a proposé en 2001 une dose sans effet (*Reference dose value*, RfD) de 0,7 µg/kg pc/sem, à partir des travaux du National Research Council (NRC, 2000). Les facteurs d'incertitude appliqués étaient de 3 pour la relation cheveu/sang et 3 pour la composante pharmacocinétique, soit un facteur global arrondi à 10, plus protecteur que celui du JECFA ($2 \times 3,2 = 6,4$) (US EPA, 2001a). Les sujets dépassant la VTR du JECFA dépassent donc nécessairement la RfD de l'US-EPA.

Dans la littérature, la plupart des études ayant évalué l'exposition au méthylmercure concerne la population générale, non fortement consommatrice de produits de la mer. Peu de dépassements sont donc généralement observés. L'estimation de l'apport de méthylmercure via la consommation de produits de la mer est souvent réalisée sur la base d'un nombre restreint d'espèces de poissons consommés (moins de 30 contre 80 dans notre étude). Il a été rapporté, pour des populations de l'Adriatique de 15 à 59 ans, consommant 2 à 6 produits de la mer/sem, des expositions moyennes de 132 à 294 µg Hg/sem (Buzina et al., 1995), soit 1,9-4,2 µg/kg pc/sem pour un individu de 70 kg. Ces résultats sont du même ordre de grandeur que les nôtres, si l'on considère que 100% du mercure est sous forme de méthylmercure dans les produits de la mer. L'exposition médiane de femmes enceintes japonaises, consommant des produits de la mer à hauteur de 5,4 fois/sem, a été évaluée avec un questionnaire de fréquence à 42,3 µg/sem, soit 0,7 µg/kg pc/sem en considérant un poids corporel de 60 kg (Yaginuma-Sakurai et al., 2009). L'EFSA a recensé les expositions de plusieurs pays européens, en s'appuyant sur les résultats de la tâche SCOOP (EFSA, 2004a, Chapman and Chan, 2000). Pour les pays les plus fortement consommateurs de produits de la mer (41 à 80 g/jour), l'exposition moyenne s'élevait à 0,4-1,6 µg/kg pc/sem et à 1,8-2,2 µg/kg pc/sem aux plus forts percentiles, ce qui est concordant avec nos résultats.

6.1.1.2 Exposition au méthylmercure calculée par le modèle pharmacocinétique

La teneur sanguine en méthylmercure a été mesurée dans un échantillon sanguin de 385 volontaires sur les 996 sujets de l'étude Calipso. Ces 385 sujets ne diffèrent pas de façon significative du reste de la population d'étude, pour les variables sociodémographiques et de consommation testées (site, âge, IMC, consommation totale de poisson et consommation totale de mollusques et crustacés, et statut tabagique) (Tableau 4), ni pour l'exposition totale au méthylmercure calculée à partir de données de consommations de poisson, mollusques et crustacés.

Les teneurs en méthylmercure mesurées dans le sang sont légèrement supérieures à celles relevées dans la littérature. Dans notre étude, la concentration moyenne chez les femmes en âge de procréer est de $2,68 \pm 1,99$ µg/L, avec une médiane de 2,39 µg/L. Dans une cohorte de femmes suédoises en âge de procréer, fortement consommatrices de poissons, la teneur médiane en méthylmercure était de 1,7 µg/L (Bjornberg et al., 2005). A titre de comparaison, dans la population générale américaine non fortement consommatrice de produits de la mer (étude NHANES), la moyenne géométrique de concentration sanguine en méthylmercure est de 1,02 µg/L chez les femmes de 16 à 49 ans (Schober et al., 2003). Il faut néanmoins noter que la moyenne géométrique est toujours inférieure à la moyenne arithmétique, et que des résultats sous cette forme présentent des valeurs plus basses.

Comme décrit dans la synthèse bibliographique, la DHTP du JECFA a été dérivée de la concentration moyenne dans les cheveux de mères exposées au méthylmercure. L'effet critique retenu était relatif au neuro-développement de l'enfant exposé *in utero*. Cette concentration capillaire (14 mg/kg de cheveu) a été convertie en concentration sanguine (56 µg/L sang) par un ratio de 1/250. Un modèle pharmacocinétique a été utilisé pour calculer l'apport alimentaire de méthylmercure correspondant à cette dose sans effet observé. Un facteur de sécurité de 2 a été appliqué pour tenir compte de la variabilité interindividuelle de la relation sang/cheveux, et un facteur de 3,2 pour tenir compte de la variabilité interindividuelle de la relation apport alimentaire/concentration sanguine. Compte tenu de la disponibilité des données sanguines individuelles dans l'Etude 1, en ne tenant compte que de la variabilité interindividuelle de la relation sang/cheveux, on obtient une valeur de 28 µg/L sang. Un seul sujet présente une concentration sanguine supérieure à cette valeur (57 µg/L). Cette forte concentration pouvant être liée à un traitement médicamenteux pouvant affecter le métabolisme hépatique et le fonctionnement rénal, ce sujet a été exclu. Excepté ce sujet, la plus forte concentration sanguine en méthylmercure est de 17 µg/L. Les résultats montrent donc dans la population étudiée des teneurs en méthylmercure sanguines inférieures à la dose sans effet considérée pour la détermination de la VTR.

L'utilisation du biomarqueur dans le modèle pharmacocinétique nécessite que la concentration sanguine soit à un niveau stable ou constant (*steady state*). Compte tenu du caractère homogène de la population étudiée et de sa consommation régulière de produits de la mer (faisant partie des critères d'inclusion dans l'étude), il a été considéré que la concentration sanguine des sujets était constante, et ainsi que le modèle pharmacocinétique pouvait être appliqué aux résultats sanguins.

Les expositions calculées par le modèle pharmacocinétique (E_{MPC}) à partir des concentrations sanguines se montrent très inférieures à celles calculées avec le questionnaire de fréquence (E_{QF}). Elles sont en moyenne de $0,65 \pm 0,64 \mu\text{g/kg pc/sem}$ pour la population adulte hors femmes en âge de procréer (contre $1,61 \pm 1,28 \mu\text{g/kg pc/sem}$ via le fréquentiel), et de $0,39 \pm 0,29 \mu\text{g/kg pc/sem}$ pour les femmes en âge de procréer (contre $1,33 \pm 0,92 \mu\text{g/kg pc/sem}$ via le fréquentiel). Plus l'exposition estimée par le questionnaire de fréquence est élevée et plus la concentration sanguine en méthylmercure est élevée, plus le ratio entre les deux expositions (E_{QF}/E_{MPC}) est bas et proche de 1. Deux hypothèses ont été proposées pour expliquer cela, la première (i) étant liée à un biais de déclaration des consommations, la seconde (ii) au métabolisme du méthylmercure :

- les consommations déclarées par les plus forts consommateurs, et donc les individus les plus exposés, sont plus proches de la réalité et donc moins surestimées que celles des plus faibles consommateurs ;
- si les consommations sont déclarées avec le même biais, quelle que soit la consommation (même facteur de surestimation ou sous-estimation), le métabolisme du méthylmercure, son absorption, distribution dans le sang et excrétion, sont dépendants de la quantité ingérée. Autrement dit, le modèle pharmacocinétique est mieux adapté aux fortes expositions qu'aux faibles expositions.

Les questionnaires de fréquence tendent à surestimer les consommations, comparativement aux carnets de consommation par exemple (Rothenberg, 2009), en particulier s'ils contiennent un nombre élevé d'items (Kim and Holowaty, 2003). Ainsi, il est possible que la consommation de produits de la mer estimée par le questionnaire de fréquence (80 items individuels, voir Etude 4, chapitre 4.5) ait été surestimée. Néanmoins, il a été montré qu'un questionnaire de fréquence avec un grand nombre d'items pour les produits de la mer pouvait être adapté, et permettre d'estimer de façon précise la consommation (Mina et al., 2007), et que l'utilisation d'items individuels était préférable à celle d'un groupe général représentatif de plusieurs aliments (Cade et al., 2004).

La surestimation peut être due à un ou deux des facteurs introduits dans le calcul de la consommation : la fréquence de consommation et la taille de portion habituellement consommée. La taille de portion pour les produits de la mer a été estimée au moyen d'un cahier photographique (LeMoullec et al., 1996), ce qui est plus précis que l'utilisation d'une taille de portion moyenne (Cade et al., 2004). De plus, pour un sujet donné, on peut supposer que la surestimation faite sur la taille de portion avec le cahier photographique est la même pour tous les aliments/items d'un même groupe. Ainsi, on peut supposer que le sujet surestimera de la même façon (d'un même facteur, donc même biais) sa portion pour tous les produits de la mer consommés. L'estimation de la fréquence de consommation fait quant à elle appel à la mémoire du sujet, ce qui est peu précis (Kim and Holowaty, 2003). De plus, il est probable que la fréquence de consommation pour un aliment consommé régulièrement, tel que le poisson dans la population étudiée, soit mieux déclarée que pour un aliment consommé de façon très occasionnelle. Il est en effet plus simple de se souvenir d'un aliment consommé toutes les semaines par exemple, que d'un aliment consommé une ou deux fois par an. Par ailleurs, dans la population de consommateurs réguliers, des associations significatives ont été

observées entre la consommation de produits de la mer ou les apports nutritionnels correspondants, et des biomarqueurs d'apports et d'exposition : la consommation de poisson totale et la consommation de poissons prédateurs (riches en méthylmercure) sont associées à la concentration de méthylmercure sanguine dans l'étude 1 (respectivement, $P < 0,0001$ et $P < 0,0001$) ; la consommation de poissons benthiques est significativement corrélée à l'arsenic inorganique urinaire pondéré par la créatinine ($P = 0,003$) dans l'étude 2 ; l'apport d'EPA calculé via la consommation de produits de la mer est associé à la concentration d'EPA dans les érythrocytes ($P = 0,009$) dans l'étude 3. Ces données vont dans le sens d'une estimation correcte des consommations de produits de la mer par le questionnaire de fréquence.

De plus, les résultats des analyses complémentaires de l'Etude 1 cherchant à vérifier l'hypothèse (i) montrent que la correction des fréquences de consommation ne permet pas de faire converger de façon significative le ratio des deux expositions calculées (E_{QF}/E_{MPC}) vers 1, et leur différence ($E_{QF} - E_{MPC}$) vers 0. Les scénarii pour lesquels seules les fréquences de consommation les plus faibles ont été diminuées font tendre le ratio E_{QF}/E_{MPC} vers 1 et réduisent sensiblement la différence entre E_{QF} et E_{MPC} (Tableau 9). Ce sont les scénarii s'appuyant sur l'hypothèse selon laquelle seules les fréquences des consommations très occasionnelles sont surestimées. Cependant, la corrélation entre E_{QF} et E_{MPC} est réduite par ces mêmes scénarii par rapport à la situation initiale, invalidant ces corrections. De même le scénario reposant sur l'hypothèse selon laquelle les individus consommant le moins d'espèces surestiment plus leurs fréquences de consommation ne semble pas plus justifié par les résultats : la corrélation est inchangée mais la différence $E_{QF} - E_{MPC}$ est augmentée.

L'hypothèse (i) selon laquelle les consommations déclarées par les faibles consommateurs seraient moins bien estimées que par les forts consommateurs n'est donc pas validée, même si elle ne peut être totalement écartée. L'hypothèse (ii) selon laquelle le modèle est mieux adapté aux forts consommateurs et donc aux fortes expositions, et donc l'hypothèse selon laquelle le modèle est protecteur, est en revanche très probable. Le métabolisme de nombreux contaminants est dépendant de la quantité ingérée. De plus, la linéarité de l'absorption du méthylmercure n'a jamais été démontrée. Elle dépend aussi de nombreux facteurs extérieurs dont l'alimentation, et des apports en certains nutriments (Chapman and Chan, 2000). Il n'est donc pas exclu que l'absorption du méthylmercure, sa distribution dans le sang et les tissus, et son excrétion, dépendent bien de l'exposition.

6.1.1.3 Evaluation du risque lié à l'exposition au méthylmercure

Etant donné que les concentrations sanguines n'indiquent pas de dépassements de la dose sans effet considérée pour la détermination de la VTR, alors que l'exposition calculée via le fréquentiel montre qu'un tiers des sujets dépasse la VTR, il est préférable de privilégier les données issues des biomarqueurs pour caractériser le risque de la population, en particulier des individus les plus exposés.

L'exposition individuelle calculée par le modèle pharmacocinétique peut être directement comparée à la DHTP, sans application de facteur d'incertitude sur la variabilité interindividuelle pour la composante pharmacocinétique. En ne considérant que le facteur d'incertitude de 2 pour la variabilité interindividuelle de la relation sang/cheveux, les moyennes d'exposition sont en-dessous de la DHTP (soit $1,6/2 = 0,8 \mu\text{g/kg pc/sem}$), mais avec des marges de sécurité relativement faibles : moins de 20% pour les adultes hors femmes en âge de procréer et 51% pour les femmes en âge de procréer.

Indépendamment des effets neurotoxiques chez le fœtus ou le jeune enfant, plusieurs études ont mis en évidence une relation entre le mercure ou le méthylmercure sanguin, capillaire ou onguaire, et la mortalité cardiovasculaire ou la prévalence de maladie cardiovasculaire (Salonen et al., 1995, Guallar et al., 2002, Virtanen et al., 2005). Ainsi, dans une cohorte de 1871 finlandais âgés de 42 à 60 ans, un accroissement du risque cardiovasculaire a été observé dès le second tertile de concentration de mercure capillaire ($0,84\text{--}2,02 \mu\text{g/g}$, soit $3,36\text{--}8,08 \mu\text{g/L}$ sang en appliquant le facteur de conversion cheveux/sang de 250) (Virtanen et al., 2005). Comparativement au premier tertile ($<0,84 \mu\text{g/g}$ cheveu, soit $<3,36 \mu\text{g/L}$ sang) le risque d'accident coronaire était 1,60 fois plus élevé dans le dernier tertile ($>2,03 \mu\text{g/g}$ cheveu, soit $8,12 \mu\text{g/L}$ sang). Le risque de maladie cardiovasculaire était quant à lui 1,68 fois plus élevé, et le risque de décès de façon générale était 1,38 fois plus élevé. Après ajustements sur les facteurs confondants, une concentration capillaire élevée ($>2,0 \mu\text{g/g}$ cheveu, soit $8 \mu\text{g/L}$ sang) serait significativement associée à un risque accru de décès par maladie cardiovasculaire ($\text{RR}=2,9$ [$\text{IC}_{95\%} : 1,2 ; 6,6$], $P=0,014$) ou de décès toutes causes confondues ($\text{RR}=2,3$ [$\text{IC}_{95\%} : 1,4 ; 3,6$], $P<0,001$) (Salonen et al., 1995). Le méthylmercure serait un facteur de risque de l'athérosclérose (Salonen et al., 2000). L'épaisseur de la paroi intima-media de la carotide apparaîtrait plus épaisse chez les hommes présentant les concentrations en méthylmercure capillaire les plus élevées (Salonen et al., 2000). En moyenne, chaque μg de méthylmercure par gramme de cheveu est associé à un épaississement de $8 \mu\text{m}$ de la paroi sur 4 ans d'étude. Des concentrations de $<0,49 \mu\text{g/g}$ (soit $<1,96 \mu\text{g/L}$ sang), $0,49\text{--}0,91 \mu\text{g/g}$, $0,92\text{--}1,49 \mu\text{g/g}$, $1,50\text{--}2,81 \mu\text{g/g}$, $>2,81 \mu\text{g/g}$ (soit $>11 \mu\text{g/L}$ sang) sont associées, respectivement, à des épaississements de $0,105 \mu\text{m}$, $0,102 \mu\text{m}$, $0,113 \mu\text{m}$, $0,107 \mu\text{m}$ et $0,140 \mu\text{m}$ ($P<0,05$). Bien que les preuves soient insuffisantes le JECFA concluait en 2004 sur la nécessité de conduire d'autres études sur la cardiotoxicité du méthylmercure (JECFA, 2004), des effets cardiovasculaires sont susceptibles d'être observés chez l'adulte pour des concentrations sanguines inférieure à la dose sans effet neurotoxique considérée pour la détermination de la VTR. Or, dans notre population (de moyenne d'âge 45 ans pour les individus pour lesquels un échantillon sanguin a été prélevé), les concentrations sanguines en méthylmercure sont en moyenne de $3,73 \pm 3,76 \mu\text{g/L}$. Plus particulièrement chez les adultes hors femmes en âge de procréer, la concentration est en moyenne de $4,27 \pm 4,34 \mu\text{g/L}$, et de $9,91 \mu\text{g/L}$ au 95^e percentile. Ces concentrations sont dans la fourchette pour laquelle un risque accru de maladies cardiovasculaires ne peut être exclu.

Etant donné que le modèle pharmacocinétique utilisé pour le calcul de la DHTP est adapté aux expositions élevées, et compte tenu de l'application de facteurs d'incertitude, la VTR du méthylmercure est protectrice du point de vue de la santé publique. Les dépassements de la VTR

chez les forts consommateurs sont à relativiser au regard de ces éléments. En population générale, les expositions sont bien plus faibles : 0,12 µg/kg pc/sem chez les adultes, 0,16 µg/kg pc/sem chez les enfants, et 0,13 µg/kg pc/sem chez les femmes en âge de procréer (ANSES, en cours). Seuls 0,84% des adultes et 1,11% des enfants dépassent la VTR, ainsi que 0,72% des femmes en âge de procréer. Ces données indiquent que le méthylmercure, en population générale, n'est pas préoccupant en termes de risque neurotoxique pour le fœtus ou le jeune enfant. Cependant les concentrations sanguines en méthylmercure des forts consommateurs de produits de la mer laissent supposer après 40 ans l'apparition d'un risque accru de maladies cardiovasculaires, consécutive à une exposition à long terme. Il convient de porter une attention particulière non seulement aux populations critiques vis-à-vis du risque neurotoxique, les femmes en âge de procréer et les jeunes enfants, mais aussi aux populations à risque de maladies cardiovasculaires. Pour ces populations, certains comportements alimentaires seraient susceptibles d'entraîner des niveaux d'expositions associés à des effets néfastes sur la santé. Ainsi le méthylmercure doit-il être pris en compte dans l'évaluation risque-bénéfice de la consommation de produits de la mer en population générale.

6.1.2 Risques liés à l'exposition à l'arsenic

6.1.2.1 Exposition à l'arsenic calculée par le questionnaire de fréquence via le régime complet

L'exposition à l'arsenic total a été estimée à travers le régime alimentaire complet des sujets de l'étude (Etude 2, chapitre 4.3). En moyenne comme au 95^e percentile, elle est significativement supérieure chez les femmes, comparativement aux hommes (respectivement $94,7 \pm 67,5$ µg/kg pc/sem et $77,3 \pm 54,6$ µg/kg pc/sem, $P < 0,001$), du fait de leur poids corporel plus faible. Cette exposition moyenne apparaît très en-deçà de celle de la population générale adulte évaluée en 2005 à 6,2 µg/kg pc/sem (Leblanc et al., 2005), et en 2010 à 5,46 µg/kg pc/sem (ANSES, en cours). Ceci pourrait s'expliquer par une surestimation de l'exposition du fait d'un biais de déclaration. Ainsi que décrit plus haut, les questionnaires de fréquence tendent à surestimer les consommations alimentaires (Kim and Holowaty, 2003, Rothenberg, 2009).

Comme cela a déjà été observé (Barberger-Gateau et al., 2005), les forts consommateurs de produits de la mer consomment également beaucoup de viande. Il ne semble ainsi pas y avoir de substitution entre produits carnés et produits de la pêche. Pour les aliments autres que les produits de la mer, seule la fréquence de consommation a été enregistrée (Etude 4, chapitre 4.5). La portion consommée a été évaluée par une portion moyenne issue de l'étude INCA1 (Volatier, 2000).

Bien que quelques différences statistiquement significatives soient observées, les consommations des groupes d'aliments relevées chez les forts consommateurs de produits de la mer sont généralement dans les mêmes ordres de grandeur que celles de la population générale de l'enquête INCA2 (AFSSA, 2009k, Dubuisson et al., 2010), excepté pour le lait, dont la consommation est plus élevée

dans la population étudiée (environ +30% pour les hommes et +50% pour les femmes) et les autres produits laitiers (environ +80% et 100%, respectivement) ($P < 0,0001$). Néanmoins, les consommations de lait sont proches de celles relevées lors de l'enquête INCA1, soit 120 g/j (Volatier, 2000, Dubuisson et al., 2010). Or l'étude Calipso dont sont issues les données a été menée entre les deux études INCA1 et INCA2, et il a été montré que la consommation de lait en population générale avait diminué entre ces deux études, en particulier chez les femmes (AFSSA, 2009k, Dubuisson et al., 2010). Parmi les produits laitiers, il faut aussi noter que la consommation de fromages dans notre étude a probablement été surestimée, du fait d'un grand nombre d'items ($n=7$) dans le questionnaire, afin de couvrir la diversité des fromages consommés en France.

Les questionnaires de fréquence sont des outils appropriés pour estimer les consommations alimentaires des adultes (Amanatidis et al., 2001, Andersen et al., 2002), notamment celles des fruits et légumes qui sont généralement mal estimées par des rappels de 24h (Kim and Holowaty, 2003, Kristjansdottir et al., 2006). Le questionnaire utilisé était plus détaillé pour les fruits et légumes que ceux retrouvés dans la littérature (Kim and Holowaty, 2003) : 9 items pour les légumes (hors pommes de terre), 11 pour les fruits, 1 pour les jus de fruits, 1 pour les soupes, chaque item présentant une liste détaillée d'exemples. Il y a donc bien un risque de surestimation, mais, d'un autre côté, cette diversité permet une meilleure couverture de la multitude de produits disponibles, ce qui peut aussi avoir aidé les sujets interrogés. Le fait de proposer des exemples à un interviewé montre de meilleurs résultats que les autres méthodes d'enregistrement (type rappel de 24h) qui sont plus simples et ne font appel qu'à la mémoire (Vuckovic et al., 2000). En plus d'une estimation correcte des consommations de produits de la mer, le questionnaire semble donc évaluer correctement les consommations des autres produits.

En conséquence, le fait que l'exposition à l'arsenic total des sujets de l'étude soit supérieure à celle de la population générale peut s'expliquer par d'autres facteurs :

- (i) l'exposition calculée pour la population générale dans les études de l'alimentation totale (EAT) ne tient pas compte de la consommation de tous les produits de la mer, qui sont les principaux contributeurs (EAT1 : 57% de la consommation de poisson, et 66% de la consommation de mollusques et crustacés ; EAT2 : 52% de la consommation de poisson, et 79% de la consommation de mollusques et crustacés ; contre 100% dans notre étude) ;
- (ii) la consommation moyenne de produits de la mer chez les forts consommateurs s'élève à plus de 600 g/sem, contre 200 g/sem dans la population générale d'INCA1 pour l'EAT1 (Volatier, 2000) et 210 g/sem dans la population INCA2 pour l'EAT2 (AFSSA, 2009k) ;
- (iii) la contamination moyenne des produits de la mer utilisée pour estimer l'exposition dans l'étude est de l'ordre de trois à cinq fois celle retrouvée dans les EAT ;
- (iv) dans notre étude, les consommations des poissons les plus contaminés (roussette, limande, rouget, etc.) sont plus élevées qu'en population générale (INCA2, résultats non publiés).

De façon générale, compte tenu des niveaux de consommation de produits de la mer dans notre étude, il est difficile de comparer les résultats d'exposition à l'arsenic total avec d'autres études,

réalisées en population générale. Par exemple, l'apport alimentaire d'arsenic total a été estimé dans une population de femmes japonaises par la méthode des repas dupliqués à 210 µg/jour (soit 24,5 µg/kg pc/sem) et par la méthode dite du « panier de la ménagère » à 280 µg/jour (soit 32,7 µg/kg pc/sem) (Tsuda et al., 1995). Xue et al (2010) ont modélisé l'exposition à l'arsenic total à partir de données de contamination de l'EAT américaine et des données de consommation de l'étude NHANES 2003-2004. La moyenne était de 0,025 µg/kg pc/jour via l'eau et 0,36 µg/kg pc/jour pour le reste de l'alimentation (Xue et al., 2010). L'EFSA a estimé une exposition moyenne de 0,45-4,3 µg/kg pc/j pour les pays Européens (EFSA, 2009a). Si les produits de la mer ne sont pas pris en compte, nos résultats d'exposition à l'arsenic total via le reste du régime (4,9 µg/kg pc/sem pour les hommes et 6,1 µg/kg pc/sem pour les femmes, soit 0,7 et 0,9 µg/kg pc/jour, respectivement) sont plus élevés que l'estimation américaine, mais en adéquation avec les données européennes les plus récentes.

Les produits de la mer apportent majoritairement de l'arsenic organique, en particulier de l'arsénobétaine. Or des VTR n'ont été proposées que pour l'arsenic inorganique, le risque lié à l'arsenic organique étant encore largement discuté par les toxicologues. Cependant, rares sont les études qui ont évalué l'apport d'arsenic inorganique. La plupart du temps, ces évaluations s'appuient sur des estimations de la part d'arsenic inorganique sur l'arsenic total dans les aliments, et non sur des données d'analyse de l'arsenic inorganique. Dans l'EAT américaine, il a été considéré que l'arsenic inorganique représentait 10% de l'arsenic total dans les produits de la mer, et 100% dans les autres aliments (Tao and Bolger, 1999). L'exposition a ainsi été estimée à 5,36-12,5 µg/jour. Néanmoins l'apport calculé via la consommation d'eau et autres boissons apparaissait très bas dans cette étude, qu'il s'agisse de l'arsenic total comme de l'arsenic inorganique. Une autre étude Nord-Américaine a estimé l'exposition aux Etats-Unis à 8,3 à 14 µg/jour et dans différents groupes de population canadiens à 4,8 à 12,7 µg/jour (Yost et al., 1998). Ces estimations sont plus basses que les nôtres : 0,48 µg/kg pc/j chez les femmes et 0,43 µg/kg pc/j chez les hommes, soit 33,6 et 30,1 µg/j en considérant un poids corporel de 70 kg.

Des hypothèses de spéciation différentes ainsi que la forte consommation de produits de la mer dans notre population peuvent expliquer ces différences. De plus la plupart des études n'a pas considéré toute l'alimentation pour le calcul d'exposition, mais seulement les forts contributeurs : l'eau, le riz, parfois les autres boissons, les produits de la mer et les algues. L'EAT chilienne en revanche, avec des hypothèses de spéciation pour l'arsenic inorganique de 11% dans les produits de la mer et 50% pour le reste de l'alimentation, a estimé l'apport à 39 µg/j (Munoz et al., 2005), soit 3,9 µg/kg pc/sem pour un adulte de 70 kg, ce qui est du même ordre de grandeur que notre exposition.

L'évaluation du risque lié à l'arsenic inorganique dépend donc des vecteurs alimentaires pris en compte, des hypothèses sur la part d'arsenic inorganique dans ces aliments, mais aussi du choix de la VTR. Dans notre étude, l'exposition moyenne dépasse les VTR de 0,3 µg/kg pc/jour (US EPA, 1993) et 1 µg/kg pc/jour (RIVM, 2001). En s'appuyant sur l'ERU de $1,5 \cdot 10^{-3}$ (µg/kg pc/jour)⁻¹ de l'US-EPA, le risque moyen de développer un cancer de la peau s'élèverait à $6,5-7,2 \cdot 10^{-4}$, ce qui est du même ordre de grandeur que le risque évalué en population générale ($4 \cdot 10^{-4}$), pour un adulte consommant 2L d'eau par jour contaminée à la valeur réglementaire. Enfin, en considérant la BMDL_{0.5} définie par le

JECFA sur l'incidence du cancer du poumon à 3,0 µg/kg pc/j (JECFA 2010), la marge d'exposition est de 6 pour les femmes et 7 pour les hommes, à la moyenne d'exposition, et de 3 au 95^e percentile d'exposition. Ces marges extrêmement faibles traduisent une importante préoccupation de santé publique (EFSA/WHO, 2005).

La grande variabilité sur les hypothèses de spéciation entre études et le fait qu'il n'y ait pas de consensus sur la VTR pour l'arsenic inorganique rend difficile l'évaluation du risque lorsque l'exposition est évaluée par le croisement des données de consommation et de contamination.

6.1.2.2 Exposition à l'arsenic évaluée par les biomarqueurs

De la même façon que pour le méthylmercure, nous avons tenté d'évaluer le risque lié à l'arsenic total et inorganique chez les forts consommateurs de produits de la mer au moyen d'un biomarqueur d'exposition. L'arsenic urinaire a été utilisé comme biomarqueur car un taux d'excrétion à la fois élevé (>60%) (Mappes, 1977) et relativement stable dans le temps a été observé pour des populations dont les apports étaient réguliers (Calderon et al., 1999), ce qui est le cas dans notre étude. L'arsenic urinaire a donc été mesuré dans un sous-groupe de volontaires, ne différant pas de façon significative du reste de la population d'étude pour les variables site, âge, IMC, consommation totale de poisson et consommation totale de mollusques et crustacés, statut tabagique et apport d'arsenic total et inorganique estimée à partir des données du questionnaire de fréquence.

Les concentrations en arsenic total urinaires apparaissent élevées. Cela s'explique par la forte consommation de produits de la mer. Parce qu'il constitue la plus grande partie de l'arsenic apporté par voie alimentaire, l'arsenic organique constitue la plus grande partie de l'arsenic excrété et reflète l'apport des derniers jours (Calderon et al., 1999, Pellizzari and Clayton, 2006, Arbouine and Wilson, 1992, Buchet et al., 1994, Heinrich-Ramm et al., 2001, Heinrich-Ramm et al., 2002).

L'absence de différence significative dans les concentrations urinaires entre hommes et femmes a déjà été observée dans la littérature (Calderon et al., 1999). En revanche, une différence est généralement observée entre fumeurs et non fumeurs (Lindberg et al., 2006). L'absence de différence significative dans notre population entre fumeurs et non fumeurs pourrait s'expliquer par un manque de puissance lié à un faible effectif (n=382), ainsi que par la non prise en compte du tabagisme passif (pas de question relative au tabagisme passif dans le questionnaire).

Concernant l'arsenic inorganique urinaire plus particulièrement, chez les 101 sujets pour lesquels il a été mesuré – pour lesquels la concentration en arsenic total urinaire était la plus élevée – la proportion de femmes est supérieure à celle observée dans l'ensemble des sujets, mais les concentrations moyennes ne sont pas statistiquement différentes entre hommes et femmes (respectivement 24,6 et 20,6 µg/g créatinine). Les formes inorganiques représentent 16% de l'arsenic urinaire total, ce qui est concordant avec la littérature (Hsueh et al., 2002, Pellizzari and Clayton, 2006). Les concentrations en arsenic inorganique sont relativement basses comparativement à celles retrouvées dans des populations de consommateurs d'algues par exemple, qui sont d'importants vecteurs d'arsenic

inorganique (Hsueh et al., 2002). Néanmoins elles sont élevées par rapport à la population générale. Parmi les 101 sujets, 87 présentent une concentration supérieure à la valeur « standard » française de 10 µg/g créatinine (pour l'arsenic inorganique plus les dérivés mono et diméthylés urinaires), qui correspond au 95^e percentile d'exposition de la population générale non exposée professionnellement (INRS, 2007).

Ces concentrations élevées ne semblent pas liées à l'apport d'arsenic inorganique par la forte consommation de produits de la mer. Certaines études ne montrent pas d'augmentation des concentrations d'arsenic inorganique urinaire avec la consommation de produits de la mer (Heinrich-Ramm et al., 2002), ni avec l'apport alimentaire d'arsenic inorganique (Hsueh et al., 2002). Dans notre étude, aucune corrélation n'apparaît entre l'arsenic inorganique urinaire et l'apport alimentaire d'arsenic inorganique par les produits de la mer, d'autres aliments, le régime complet, ou l'eau seule, et ce malgré la forte contribution connue de l'eau dans l'apport (Calderon et al., 1999, Caceres et al., 2005, Uchino et al., 2006). Concernant la consommation d'eau de boisson, un biais de déclaration doit être suggéré compte tenu du mode de recueil du questionnaire rendant l'estimation difficile pour l'interviewé (type de contenant principalement utilisé et nombre de contenants utilisés par jour).

6.1.2.3 Evaluation du risque lié à l'exposition à l'arsenic

L'absence de corrélation entre l'exposition à l'arsenic total et inorganique évaluée par le questionnaire et les biomarqueurs soulève d'une part la question de la validité de l'utilisation du biomarqueur dans l'analyse du risque lié à l'arsenic. L'existence d'une corrélation entre l'apport d'arsenic par voie alimentaire et l'arsenic excrété, et par conséquent la validité du biomarqueur utilisé, restent très controversées (EFSA, 2009a). Selon L'Agence américaine pour le Registre des Substances Toxiques et Maladies (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, ATSDR), les proportions des différents métabolites dans les urines (AsIII, AsV, MMA en DMA) sont relativement constantes dans le temps, indépendamment de l'apport (ATSDR, 2007), ce qui pourrait aussi remettre en cause le biomarqueur. Ainsi, il conviendrait de considérer l'exposition alimentaire à chaque métabolite séparément, et non l'arsenic total ou inorganique dans leur totalité. D'autres études sont nécessaires pour identifier des biomarqueurs d'exposition alimentaire à l'arsenic.

D'autre part se pose la question de la validité de l'évaluation de l'exposition à l'arsenic (total et formes de spéciation) menée dans notre étude. En l'absence de données de comparaison dans la littérature, les données de contamination censurées (concentrations inférieures à la LOD pour les formes de spéciation) ont été considérées comme égales à LOD/2. Cette approche « *middle bound* » peut tendre à surestimer les contaminations et donc les expositions si le contaminant considéré n'a pas été détecté car il n'est effectivement pas présent dans la matrice. Ce peut être le cas d'un composé totalement métabolisé par le poisson par exemple. Par ailleurs il existe une grande variabilité dans la contamination des espèces malgré le fait que l'échantillonnage tienne compte de plusieurs paramètres : origine géographique, habitudes de consommation et d'achats des sujets, parts de marché, modes de conservation, etc. De plus, la spéciation n'était disponible que pour les produits de la mer. Pour les autres matrices, des hypothèses sur la part d'arsenic inorganique ont été faites,

entraînant un biais dans l'estimation de l'exposition. Il conviendrait, pour une analyse du risque plus précise, de mener d'autres études afin de doser l'arsenic inorganique dans les autres matrices alimentaires, en particulier les forts contributeurs tels que les volailles, les viandes, les produits laitiers et les céréales. En outre, il conviendrait de tenir compte de la cuisson, qui peut influencer de façon non négligeable la concentration en arsenic, en particulier la cuisson à l'eau qui tend à augmenter les concentrations (Rahman et al., 2006, Signes et al., 2008, Torres-Escribano et al., 2008). Le fait de laver les aliments également peut réduire les concentrations en arsenic (EFSA, 2009a).

Chez les forts consommateurs, les produits de la mer représentent un vecteur important d'exposition à l'arsenic total, mais aussi à l'arsenic inorganique. Ils contribuent à 18 à 20% de l'exposition à l'arsenic inorganique. L'eau reste néanmoins le contributeur majoritaire (21-23%). L'évaluation du risque est rendue difficile par les très faibles marges d'exposition pour l'exposition moyenne comme au 95^e percentile. Mais celles-ci ne permettent pas de quantifier la part de population concernée par ce risque. Par ailleurs, les résultats sur les biomarqueurs doivent être interprétés de façon précautionneuse et ne permettent pas, contrairement aux résultats sur le méthylmercure, de mieux caractériser le risque.

Dans la population adulte française, l'exposition moyenne à l'arsenic inorganique a été estimée à 0,24 et 0,28 µg/kg pc/jour pour des hypothèses de spéciation basses et hautes (ANSES, en cours). Comme dans notre étude, le vecteur principal est l'eau et les autres boissons (respectivement 54% et 47%). En revanche, la consommation de produits de la mer ne contribue à l'exposition totale qu'à hauteur de 2%. En tenant compte de la BMDL_{0,5} de 3 µg/kg pc/j (JECFA, 2010a), la marge d'exposition est de 13 pour l'exposition moyenne sous l'hypothèse basse. Au 95^e percentile d'exposition, la marge d'exposition est inférieure à 10, quelle que soit l'hypothèse considérée. Au même titre que chez les forts consommateurs, ces marges sont très faibles, et témoignent d'une forte préoccupation de santé publique et d'une nécessité de réduire les expositions. Le risque en population générale n'apparaît donc pas inférieur à celui des forts consommateurs. La forte contribution à l'exposition des produits de la mer chez les forts consommateurs, et la préoccupation de santé publique concernant l'arsenic inorganique, rend incontournable son intégration à l'analyse risque-bénéfice de la consommation de produits de la mer.

6.2 Bénéfices liés à la consommation de produits de la mer

6.2.1 Bénéfices liés à l'apport d'acides gras polyinsaturés oméga 3 à longue chaîne

6.2.1.1 *Modélisation de la relation entre consommation de poisson et teneur en EPA et DHA des hématies*

Ci-après il sera dénommé « teneur en EPA et DHA des hématies », « teneur sanguine », ou encore « teneur érythrocytaire », les teneurs en EPA et DHA de la membrane des hématies. De plus, lorsqu'il sera fait mention de « membrane », il s'agira de la membrane érythrocytaire.

La conclusion principale de l'Etude 3 est que, chez les consommateurs de produits de mer à hauteur d'au moins 2 fois par semaine, la consommation optimale de poissons très gras est d'environ 200 g/sem en plus de leur consommation d'autres produits de la mer. Il apparaît que la concentration érythrocytaire d'EPA+DHA – un biomarqueur de santé cardiovasculaire – augmente avec la consommation de poissons très gras pour atteindre un plateau pour une consommation supérieure à 200 g/sem.

La teneur en EPA+DHA dans la membrane des hématies est l'un des biomarqueurs les moins invasifs de l'apport d'EPA+DHA (Arab, 2003b). Aussi appelé « *omega-3 index* », la proportion d'EPA+DHA dans les acides gras des hématies a été proposée comme facteur de risque de mortalité cardiovasculaire, en particulier de maladie coronaire et de mort subite cardiaque (Harris and Von Schacky, 2004, Harris, 2008). Un taux de 8% et plus serait associé à la plus forte protection, alors qu'un taux de 4% et moins serait associé au risque le plus élevé (Harris and Von Schacky, 2004, Harris, 2008). Dans notre population, les proportions de sujets qui atteignent les seuils de 8% et 4% d'EPA+DHA dans le sang (5% et 64% respectivement), sont proches de celles observées dans une étude américaine sur l'impact de la consommation régulière de poisson sur les concentrations sanguines en acides gras (9% et 56% respectivement) (Sands et al., 2005). Cependant, la plupart les études sur les relations entre consommation de poisson et biomarqueurs ont été menées sur le sérum et non sur les hématies (Bonaa et al., 1992, Bjerve et al., 1993, Svensson et al., 1993, Andersen et al., 1996, Anttolainen et al., 1996, Hjartaker et al., 1997, Amiano et al., 2001, Wakai et al., 2005, Welch et al., 2006, Philibert et al., 2006, Astorg et al., 2008a). Or, les concentrations plasmatiques sont un bon marqueur à court terme, à quelques jours, de la consommation de poisson et de l'apport d'acides gras (EPA+DHA en particulier), alors que les hématies constituent un bon marqueur à long terme (Katan et al., 1997, Arab, 2003a, Sun et al., 2007), plus pertinent pour évaluer les apports de la consommation régulière, sur plusieurs mois.

Par ailleurs, la plupart de ces études a été conduite sur des populations spécifiques différentes de la nôtre : patients hospitalisés ou non (Hibbeln et al., 2003, Block et al., 2008), femmes enceintes (Olsen et al., 1995, Parra et al., 2002, Williams et al., 2006), ou consommateurs peu fréquents de poisson (Dallongeville et al., 2003, Sands et al., 2005) ou encore non consommateurs (Berry et al., 2001). Enfin les paramètres étudiés sont souvent la fréquence de consommation de poisson sans précision sur les quantités consommées (Sands et al., 2005), ou encore l'apport d'EPA+DHA ajusté sur l'apport total d'acides gras, sans précision sur la consommation de poisson (Itomura et al., 2008). Malgré ces différences de méthodologie, l'association positive observée entre la consommation de poissons très gras et les teneurs en DHA et en EPA+DHA des hématies (mais pas en EPA) est cohérente avec les résultats de la littérature (Berry et al., 2001, Dallongeville et al., 2003, Sands et al., 2005, Mina et al., 2007).

En ce qui concerne les facteurs d'ajustement, il apparaît que pour les sujets de moins de 55 ans environ, la teneur en EPA+DHA des hématies est positivement associée à l'âge, ce qui concorde avec la littérature (Sands et al., 2005, Mina et al., 2007, Itomura et al., 2008, Block et al., 2008), et ce indépendamment de l'augmentation de la consommation de poissons avec l'âge (Bemrah et al., 2009) également observée en population générale (AFSSA, 2009k).

Quel que soit le quartile de consommation, le sex-ratio est le même. Néanmoins, les femmes ont une teneur moyenne en EPA+DHA érythrocytaire plus élevée que celle des hommes ($P=0,02$), ce qui a déjà été observé dans d'autres études (Hibbeln et al., 2003, Sands et al., 2005). Si la conversion chez l'humain de l'acide alpha-linolénique, précurseur des oméga-3 et donc de l'EPA et DHA, est faible, elle est plus élevée chez la femme, certainement du fait d'une régulation par les estrogènes de la désaturation et de l'élongation des acides gras (Burdge and Wootton, 2002, Pawlosky et al., 2003).

L'IMC, dans certaines études, est négativement associé à la teneur en EPA+DHA des hématies, en particulier pour des IMC élevés (>25) (Sands et al., 2005). L'hypothèse avancée était que cette association résultait plus de pathologies liées à l'obésité plutôt qu'à l'augmentation de poids elle-même (Elizondo et al., 2007). Dans une étude japonaise, l'IMC n'avait pas d'effet significatif sur l'EPA+DHA sanguin (Itomura et al., 2008), néanmoins l'IMC était élevé ($26,2 \pm 4,8$) comparé au nôtre (24 ± 4). Il n'a pas été fait d'ajustement sur l'IMC pour deux raisons. D'une part, l'IMC n'étant pas associé aux teneurs en acides gras dans le sang, il ne pouvait être considéré comme un facteur de confusion. D'autre part, l'IMC étant dépendant de la masse corporelle et de l'apport énergétique (et donc de l'apport alimentaire), il pourrait être une cause de la consommation alimentaire et donc de poissons très gras. Ainsi, ajuster sur l'IMC aurait créé artificiellement une distorsion de la relation entre la variable « poissons très gras » et la variable d'intérêt principal (Hernan et al., 2002). En effet, l'IMC s'est avéré être légèrement corrélé à la consommation de poissons gras ($R=0,11$).

L'apport d'alcool étant connu pour altérer le métabolisme lipidique (Simon et al., 1996, Pawlosky and Salem, 2004), l'ajustement était légitime. L'association significative entre cette variable et la teneur en EPA+DHA sanguine de notre modèle est concordante avec la littérature (Mina et al., 2007, Block et al., 2008).

En France, la consommation de viande, volaille et œufs contribue à hauteur de 18% à l'apport d'EPA+DHA (Astorg et al., 2004), et des contributions similaires ont été montrées dans d'autres pays (Sioen et al., 2006, Howe et al., 2006). Cependant notre modèle n'indique pas d'effet des consommations de viande ou de produits de charcuterie sur la teneur en EPA+DHA des hématies. Ceci peut s'expliquer par la forte contribution des produits de la mer et spécifiquement des poissons très gras dans notre population, comparativement aux autres produits animaux.

Enfin, l'association inverse observée entre le statut socio-économique et la teneur en EPA+DHA des hématies est concordante avec la littérature (Cohen et al., 2008). Le fait d'avoir un statut socio-économique bas et dans une moindre mesure un statut socio-économique moyen, est négativement associé à la teneur en EPA+DHA des hématies. Ceci s'expliquerait en partie par le fait que les produits de la mer sont relativement chers, et que les statuts socio-économiques élevés sont davantage sensibilisés aux considérations de santé publique et d'équilibre alimentaire (Cohen et al., 2008).

Il faut noter que certains facteurs potentiellement confondants n'ont pas pu être pris en compte dans le modèle car les informations n'ont pas été enregistrées par le questionnaire. Il s'agit par exemple de la prise de contraception hormonale (Berry et al., 2001) ou encore de l'activité physique (Itomura et al., 2008).

L'association entre apports d'acides gras via la consommation de produits de la mer et teneurs des hématies a également été étudiée. Les apports totaux estimés dépendent de la consommation des différentes espèces, mais également de la teneur moyenne en acides gras. Cette teneur est susceptible de varier en fonction des saisons (Hamre et al., 2003, Khan et al., 2006), du sexe et du cycle de reproduction du poisson, de son alimentation et son origine géographique (Hamilton et al., 2005, USDA, 2009). L'échantillonnage de produits réalisés dans l'étude Calipso et décrit précédemment (Sirot et al., 2008b) étant représentatif des achats des consommateurs, les apports calculés tiennent donc compte des origines géographiques principales des poissons consommés et de leur alimentation qui en dépend. Le biais lié à ces sources de variabilité est donc maîtrisé. Concernant la saison et le cycle de reproduction des poissons, l'échantillonnage et les prélèvements biologiques ayant été réalisés sur des périodes relativement proches, l'on peut considérer que les apports calculés sont représentatifs de ceux correspondant à la période du prélèvement sanguin.

Dans notre étude, la teneur en EPA des hématies était linéairement associée à l'apport d'EPA via la consommation totale de produits de la mer, alors que la teneur en DHA des hématies n'était pas corrélée à l'apport alimentaire de DHA. Ceci peut expliquer l'absence d'association entre l'apport d'EPA+DHA et la teneur en EPA+DHA des hématies. De plus, il a été rapporté dans de nombreuses études d'observation et d'intervention que la relation entre apport et teneur érythrocytaire était plus robuste pour l'EPA que pour le DHA (Simoens et al., 2008, Katan et al., 1997, Brown et al., 1991b, Brown et al., 1991a). En effet, l'incorporation de l'EPA dans la membrane érythrocytaire serait plus rapide que celle du DHA (Simoens et al., 2008). De plus, après 6 semaines de régime à base de poissons, supplémenté ou non d'huile de poisson (5 g huile/jour, 0,99 g EPA/jour, 0,99 g DHA/jour),

l'EPA atteindrait un plateau, et l'augmentation, indépendamment de la durée du régime, serait proportionnelle à l'apport alimentaire (Brown et al., 1991b, Brown et al., 1991a). Inversement, l'augmentation de la concentration en DHA serait significativement corrélée à la durée du régime, indépendamment de l'apport en DHA. L'hypothèse avancée par les auteurs pour expliquer ce résultat est la distribution préférentielle de l'EPA à l'extérieur de la membrane cellulaire, et du DHA à l'intérieur de la membrane.

Bien que l'apport d'EPA ait un effet linéaire important sur l'EPA sanguin, la consommation de poissons très gras n'a pas d'effet sur l'EPA sanguin dans notre étude. Ceci suggère que la consommation de poissons maigres peut avoir un impact significatif sur la teneur en EPA sanguin, comme cela a déjà été rapporté (Mina et al., 2007). Cette hypothèse est soutenue par le fait que la teneur en EPA des poissons varie beaucoup entre les espèces (Sirot et al., 2008b). En revanche, la consommation de poissons très gras augmente de façon significative la teneur en DHA des hématies, mais de façon non linéaire, alors que l'apport de DHA via la consommation de produits de la mer n'a pas d'effet significatif. Ce résultat pourrait s'expliquer par une saturation du DHA dans la membrane (Simoens et al., 2008, Brown et al., 1991b, Brown et al., 1991a). Nos résultats suggèrent également une saturation de l'EPA+DHA total érythrocytaire, pour une consommation de poissons très gras supérieure à 200 g/sem. Aucune teneur en EPA+DHA érythrocytaire supérieure à 13% n'a été rapportée (Mina et al., 2007, Dallongeville et al., 2003, Itomura et al., 2008), soutenant l'hypothèse de la saturation biologique. Cette hypothèse est également appuyée par le fait que, si plusieurs études épidémiologiques ont montré un effet bénéfique cardiovasculaire d'une consommation modérée de poissons gras (1 à 2 portions par semaine) par rapport à une consommation nulle, elles n'ont pas mis en évidence d'effet bénéfique supplémentaire d'une plus forte consommation, suggérant un plateau de l'effet (Mozaffarian, 2008, Mozaffarian and Rimm, 2006, Mozaffarian, 2009).

Il apparaît donc que, par rapport à une consommation nulle, une consommation de 200 g de poissons très gras par semaine entraîne un gain maximal en termes d'EPA+DHA dans le sang. Une consommation supérieure pourrait entraîner une moindre efficacité de l'incorporation des oméga 3 à longues chaînes dans la membrane des hématies. La consommation d'huile de poisson, ou d'AGPI-LC n-3 accélère la clairance des chylomicrons en augmentant de façon significative l'activité des LPL qui hydrolysent les triglycérides circulant dans les mono et diglycérides, ainsi que les acides gras libres, utilisés comme source d'énergie par les cellules (Qi et al., 2008). Ceci pourrait contribuer à la baisse de la concentration en AGPI-LC n-3 successive à une consommation de poisson. L'EPA et le DHA eux-mêmes peuvent induire une autorégulation de leurs concentrations, résultant en une limitation de la teneur en acides gras (plateau), voire une diminution de cette teneur. En effet, des études menées chez des rongeurs ou au niveau cellulaire ont montré que l'EPA, et le DHA dans une moindre mesure, en modifiant l'expression de certains gènes, entraînaient une augmentation de la beta-oxydation dans les mitochondries et les peroxysomes et une baisse des taux d'EPA et DHA (Madsen et al., 1999, Flachs et al., 2005).

6.2.1.2 Autres facteurs susceptibles d'impacter sur les AGPI-LC n-3 des hématies

La consommation de 200 g de poissons très gras par semaine ne garantit cependant pas d'atteindre le seuil de 8% d'EPA+DHA dans les hématies, ni même le seuil de 4% pour 36,6% des sujets. Certains présentent même des concentrations de l'ordre de 2%. Ces faibles concentrations sont certainement explicables en partie par le polymorphisme génétique du métabolisme des acides gras au sein de la population étudiée. Néanmoins, une diminution des concentrations en AGPI dans le sang peut aussi résulter du stress oxydant induit par des facteurs sociaux ou environnementaux. L'effet « site » observé dans notre population pourrait en être un exemple. Il pourrait en partie s'expliquer par la pollution atmosphérique dont les effets sur l'athérosclérose, la prévalence d'infarctus, l'arythmie et la santé pulmonaire et cardiovasculaire en général ont été montrés. Si les mécanismes d'action sont encore discutés (Wayne and Cascio, 2005), l'hypothèse du stress oxydant pour les expliquer a plusieurs fois été avancée (Schwartz et al., 2005, Romieu et al., 2005). L'ozone (O_3) en particulier augmente le stress oxydant et par là même l'oxydation des lipides (Romieu et al., 2008). Une exposition prolongée à l'ozone entraîne une augmentation de la concentration de 8-isoprastane dans le sang, un biomarqueur de peroxydation lipidique (Chen et al., 2007). Or, entre 1999 et 2001, les concentrations atmosphériques d'ozone étaient équivalentes à Lorient, au Havre et à La Rochelle, mais bien plus élevées à Toulon (Ministère français de l'Ecologie et du Développement, 2002), où les habitants ont des teneurs en EPA+DHA sanguines significativement plus faibles.

Dans certaines études, le fait de fumer n'était pas associé de façon significative au taux d'EPA+DHA sanguin (Sands et al., 2005, Itomura et al., 2008). Mais, dans d'autres, fumer était associé à une moindre teneur en AGPI dans les hématies (Hibbeln et al., 2003, Berry et al., 2001), en EPA+DHA (Block et al., 2008), ou encore en DHA chez l'adulte (Brown et al., 1998). L'impact du tabac sur le stress oxydant n'est pas clair. Il a été montré que le tabac pouvait contribuer à la production d'espèces réactives de l'oxygène, oxydant les lipides (Zawadzki et al., 2008), alors que d'autres études n'ont pas mis en évidence d'accroissement de la peroxydation des AGPI-LC n-3 avec le tabac (Puri et al., 2008). Dans notre étude, l'impact négatif du tabac semble s'intensifier avec la consommation de tabac. L'absence d'effet significatif de la consommation passée de tabac (ancien fumeur) sur la teneur en EPA+DHA sanguine peut être due à la taille restreinte de notre échantillon. De plus, comme indiqué précédemment, le questionnaire n'a pas enregistré le tabagisme passif parmi les non fumeurs ou anciens fumeurs, induisant un biais. Pour les anciens fumeurs, la quantité de tabac consommée n'a pas non plus été prise en compte dans le modèle, pas plus que le nombre d'années pendant lesquelles ils ont fumé ou la durée de sevrage.

La consommation de produits de la mer, comme décrit plus haut, entraîne aussi une exposition aux éléments traces : méthylmercure, arsenic, mais aussi cadmium. Dans notre population de forts consommateurs, l'exposition à ces contaminants est particulièrement élevée (Etude 1 et 2) (JECFA,

2004, Sirot et al., 2008c), et est susceptible d'induire une peroxydation lipidique par des mécanismes de stress oxydant. De façon plus générale, en France, les produits de la mer représentent une source importante d'éléments traces. Le poisson est la première source de méthylmercure et apporte 50% de l'arsenic total ingéré quotidiennement (Leblanc et al., 2005). Les mollusques et crustacés constituent quant à eux l'un des premiers vecteurs de cadmium. Or plusieurs études ont montré que ces contaminants pouvaient induire une augmentation du stress oxydant dans les membranes cellulaires et les lipoprotéines, ce qui atténuerait les effets protecteurs des AGPI-LC n-3.

Le mercure a une forte affinité pour le sélénium et le glutathion. Il peut ainsi réduire leur biodisponibilité, promouvoir la peroxydation lipidique et ainsi compromettre l'activité et les défenses antioxydantes des cellules (Virtanen et al., 2005). Cette réaction peut être catalysée par des concentrations élevées en cuivre et en fer parallèlement à des concentrations basses en sélénium (Seppanen et al., 2004). Il a aussi été suggéré que l'arsenic total pouvait augmenter la peroxydation lipidique au niveau des cellules en activant la production d'espèces réactives de l'oxygène. Plus particulièrement, l'arsenic inorganique mais aussi le cadmium peuvent induire une réduction des concentrations et de l'activité des enzymes antioxydantes et consécutivement une augmentation des niveaux de produits de la peroxydation lipidique (Roy and Saha, 2002, Hubs'kyi lu et al., 2003, Kalahasthi et al., 2007). L'arsenic inorganique réduirait les concentrations et activités de la glutathion peroxydase et glutathion-S-transférase (Ahmad et al., 2000, Santra et al., 2000, Roy and Saha, 2002). Le cadmium quant à lui réduirait les activités de la catalase et de la superoxyde dismutase, en induisant une déficience en fer en son centre actif pour l'une, et résultant d'une interaction cadmium-zinc pour l'autre (Jemai et al., 2007, Kalahasthi et al., 2007).

Plus précisément, il a été plusieurs fois avancé que le méthylmercure réduirait les effets protecteurs des AGPI-LC n-3 (Virtanen et al., 2005, Mozaffarian and Rimm, 2006) et serait ainsi un facteur de risque de maladies cardiovasculaires (Kishimoto et al., 1995, Guallar et al., 2002, Stern, 2005, Stocker and Keaney, 2004). Comme décrit plus haut, dans notre population, les concentrations sanguines en méthylmercure sont proches de celles pour lesquelles la littérature a décrit un risque de maladies cardiovasculaires. Les hypothèses avancées pour expliquer ce risque reposent sur une peroxydation lipidique plus élevée chez les individus les plus exposés au méthylmercure (Virtanen et al., 2005), et ainsi promouvoir l'athérosclérose (Salonen et al., 2000). Le volet santé du questionnaire ne présentait pas de questions sur la santé cardiovasculaire. Il était demandé aux sujets s'ils étaient suivis pour un diabète et/ou pour une hypertension artérielle, avec un recueil facultatif de la tension. Il n'était donc pas possible d'évaluer le statut cardiovasculaire des interviewés, ni donc d'apprécier l'éventuel effet de l'apport d'AGPI-LC n-3. Néanmoins, même si aucun effet cardiovasculaire n'avait été observé, et même si tous les individus de l'étude n'atteignent pas des concentrations en méthylmercure de l'ordre de 8 µg/L (concentration associée aux effets cardiovasculaires), il peut être supposé que les concentrations soient suffisantes pour qu'il y ait peroxydation lipidique. Un dosage des marqueurs de peroxydation lipidique pourrait être envisagé chez les forts consommateurs de produits de la mer pour vérifier cette hypothèse (substances réagissant à l'acide thiobarbiturique, diènes conjugués, isoprostanes).

6.2.2 Bénéfices liés aux autres nutriments

6.2.2.1 Apports et besoins nutritionnels des forts consommateurs de produits de la mer

L'un des principaux biais du questionnaire alimentaire est la non prise en compte de la prise de compléments alimentaires, ni des aliments enrichis autres que les céréales ou les yaourts qui font partie de la consommation « courante ». En France, 20% des adultes consomment occasionnellement ou régulièrement des compléments alimentaires, composés dans la plupart des cas de vitamines et/ou minéraux (AFSSA, 2009k). Il est donc possible que les apports calculés soient sous-estimés.

Il a été discuté plus haut de la confiance qui pouvait être accordée aux données de consommation enregistrées par le questionnaire de fréquence. En population générale adulte, les fruits et légumes contribuent de façon importante à l'apport de certains nutriments, dont des minéraux et vitamines (glucides, vitamines B₆, B₉, C, E, magnésium, manganèse, potassium, cuivre). Afin de s'affranchir d'une surestimation des apports liée à un biais de déclaration (Joachim, 1997, Shu et al., 2004), les fréquences de consommation enregistrées pour ces aliments, qui sont des produits saisonniers, ont été pondérées par la durée de disponibilité des produits sur l'année (Etude 4), comme suggéré par la littérature (Joachim, 1997, Carrière et al., 2007). L'utilisation de ces pondérations conduit à des consommations équivalentes à celles relevées en population générale (non présenté), ce qui justifie notre hypothèse sur les déclarations.

Concernant les apports en lipides totaux, la contribution des pizzas/quiches/sandwiches, des viennoiseries/biscuits/gâteaux, des produits laitiers totaux et des produits carnés est plus importante que la contribution de l'ensemble des produits de la mer (Tableau 22). Etant donné la forte teneur de ces produits en acides gras saturés, l'apport déséquilibré d'acides gras (apports d'AGS et AGMI élevés, apports d'AGPI trop bas) observé dans d'autres études françaises (Carrière et al., 2007, AFSSA, 2009k) s'observe aussi chez les forts consommateurs de produits de la mer, malgré leur apport plus élevé en AGPI. Des observations antérieures faites sur cette même population montrent un apport moyen d'EPA+DHA via la consommation de produits de la mer de 1238 mg/j (Bemrah et al., 2009), ce qui dépasse largement l'apport recommandé de 500 mg/j. Néanmoins, 16% des sujets n'atteignent pas cette recommandation, du fait d'une faible consommation de poissons gras (>5% lipides), de l'ordre de 52 g/sem, comparée à celle des sujets atteignant la recommandation, de l'ordre de 227 g/sem. Les ANC pour les acides gras révisés par l'AFSSA en 2010 distinguent les précurseurs, acide linoléique et acide alpha-linolénique (ANC exprimé comme un pourcentage de l'apport énergétique total) de l'EPA et du DHA (ANC exprimés en mg/j pour un apport énergétique total de 2000 kcal) (AFSSA, 2010a). Cependant nos données n'étaient pas assez détaillées pour distinguer les précurseurs des AGPI. A défaut, et à titre indicatif, si l'on exprime l'ANC de l'EPA+DHA en pourcentage de l'apport énergétique total (0,225 %), et que l'on somme les ANC des AGPI, le total fait 5,225%. L'apport moyen en AGPI des sujets de l'étude correspond approximativement à cette

valeur. Néanmoins, les apports détaillés en acides gras (dont EPA, DHA et les précurseurs) devraient être réévalués après la prochaine mise à jour de la table de composition nutritionnelle française (AFSSA-CIQUAL, 2008) qui présentera des données plus complètes de composition en acides gras.

Les prévalences d'inadéquation d'apports chez les forts consommateurs de produits de la mer sont faibles à modérées (Tableau 21), les plus fortes étant observées pour la vitamine C (41,3% chez les hommes et 40,1% chez les femmes), la vitamine E (35,0% chez les hommes et 35,3% chez les femmes), et le magnésium (37,5% chez les hommes et 25,5% chez les femmes). Les fortes prévalences d'inadéquation d'apports observées en population générale pour le calcium, le magnésium, le fer ou encore la vitamine C (Touvier et al., 2006, AFSSA, 2009k) ne sont pas observées, ou dans une bien moindre mesure, chez les forts consommateurs de produits de la mer. Un groupe est considéré comme « particulièrement à risque » d'insuffisance d'apport dès lors que l'intervalle de confiance à 95% autour de la prévalence inclut une valeur supérieure ou égale à 70%, et n'inclut pas la valeur de 50%. Ce n'est le cas pour aucun nutriment dans l'étude et les prévalences sont relativement faibles pour les vitamines B₁₂ et D, l'iode et le sélénium, pour lesquels les produits de la mer sont des contributeurs majoritaires (40 à 65%). Cependant, la différence en population générale entre hommes et femmes concernant la prévalence d'inadéquation d'apport en fer (supérieure chez les femmes) apparaît aussi chez les forts consommateurs.

Les produits laitiers sont le second contributeur à l'apport d'iode, après les produits de la mer. Ce résultat est cohérent avec les observations faites en population générale, et est lié à l'utilisation de composés iodés en alimentation animale, dans les médicaments vétérinaires et les produits de nettoyage dans les exploitations laitières (AFSSA, 2005b). La contribution des produits de la mer à l'apport en iode atteint 41,4%, confirmant que ces produits sont une source importante d'iode (Bourre and Paquotte, 2008). Ils contribuent également fortement à l'apport de vitamine D, de façon plus importante qu'en population générale (65% contre 40%) (Bourre and Paquotte, 2008, AFSSA, 2009k) et que chez les personnes âgées, pour lesquelles le poisson est généralement une source majeure (Carrière et al., 2007). Néanmoins cette contribution est inférieure à celle observée dans une étude japonaise (90%) (Nakamura et al., 2002). L'apport de vitamine D est aussi inférieur à celui estimé chez des consommateurs de poissons norvégiens (Engeset et al., 2007), mais supérieur à celui de consommateurs anglais (Davey et al., 2003), de même que les apports de fer et de vitamine B₁₂. Les différences observées dans les différentes populations de consommateurs de poisson peuvent s'expliquer par des compositions différentes pour une même espèce, due aux pratiques d'alimentation des poissons d'élevage, aux variations saisonnières ou la période de reproduction (Hamre et al., 2003, Khan et al., 2006), à l'origine géographique, aux différences de consommation des espèces, au ratio poissons gras/maigres, mais aussi à la consommation de compléments alimentaires, par exemple élevée dans la population norvégienne.

L'apport de sélénium n'est pas optimal dans la population française (AFSSA, 2009k), en particulier chez les personnes âgées (Ducros et al., 1997). Chez les forts consommateurs de produits de la mer, l'apport de sélénium est plus élevé, et le statut en antioxydants s'en trouve amélioré.

Les produits de la mer contribuent également à 15% de l'apport en zinc, contre 3,3% en population générale (AFSSA, 2009k). Ces apports sont également plus élevés que ceux observés dans l'étude

Epic chez des forts consommateurs de poisson (Davey et al., 2003). Dans cette population, les produits de la mer apparaissent aussi comme seconds contributeurs à l'apport en cuivre et vitamine E. Ainsi le statut en antioxydants de ces sujets est relativement élevé, notamment pour la vitamine E, le zinc, le sélénium et le cuivre. Ceci est d'autant plus important que leurs apports en AGPI-LC n-3 sont élevés, plus susceptibles à l'oxydation que les autres acides gras. Par ailleurs, comme déjà discuté, ces consommateurs présentent des apports en contaminants pro-oxydants (méthylmercure, arsenic, cadmium) plus élevés que la population générale (Etude 1 et 2) (Sirot et al., 2008c). De plus, les proportions de sujets âgés et de fumeurs sont élevées, avec un statut antioxydant non optimal. Comme dans la population générale, le pain et les produits céréaliers sont les contributeurs principaux à l'apport de sodium (excepté le sel de table). Du fait de leur teneur naturelle en sel, les produits de la mer contribuent de façon plus importante à l'apport de sodium que les produits laitiers et les produits carnés, qui sont les contributeurs principaux en population générale. Ainsi l'apport moyen de sodium dépasse la valeur guide française établie pour le sel dans un contexte de politique de santé publique visant à réduire les teneurs en sels ajoutés dans les aliments (8 g de sel).

6.2.2.2 Apports nutritionnels et limites de sécurité

Les bénéfices des apports nutritionnels liés à la consommation de produits de la mer sont à relativiser au regard des dépassements des limites de sécurité fixées par l'EFSA pour les nutriments (EFSA, 2006b). Ces limites sont dépassées pour une partie des sujets étudiés pour le zinc (6,2% des sujets), le calcium (3,7% des sujets), le rétinol (2% des sujets), le cuivre (0,9% des sujets), l'iode (0,2% des sujets), le sélénium (0,1% des sujets) et la vitamine D (0,1% des sujets). Ces pourcentages sont relativement faibles et ne sont significativement différents de zéro que pour le zinc, le calcium, le rétinol et le cuivre. En particulier, les 3,7% de sujets dépassant la limite de sécurité fixée pour le calcium doivent être considérés avec précaution étant donné la probable surestimation des consommations de produits laitiers (fromages). Néanmoins, certains de ces dépassements pourraient devenir plus préoccupants étant donné que les calculs d'apports n'incluent ni les compléments alimentaires ni les aliments enrichis. Or, la consommation de compléments alimentaires pourrait accroître le risque de dépassement des limites de sécurité (Touvier et al., 2005), et ce pour les sujets déjà proches des limites de sécurité.

Bien que le statut nutritionnel des forts consommateurs de produits de la mer ne soit pas optimal, au regard de l'apport lipidique (AGMI et AGS principalement) et de certaines prévalences d'inadéquation d'apports, les résultats de l'étude 4 montrent des apports satisfaisants pour certains nutriments clés, avec très peu de dépassement des limites de sécurité dans l'ensemble. Certains sous-groupes de population ont des besoins spécifiques en certains nutriments apportés en grandes quantités par les produits de la mer : la vitamine D pour les personnes âgées et les femmes allaitant, l'iode pour les femmes enceintes, le fer pour les femmes et adolescentes, etc. Ces éléments font des produits de la mer des aliments contributeurs de choix, à considérer pour couvrir les besoins nutritionnels en population générale, notamment : EPA, DHA, cuivre, fer, iode, vitamines D et B₁₂, et zinc.

6.3 Analyse risque-bénéfice de la consommation de produits de la mer

La plupart des analyses risque-bénéfice de la consommation de produits de la mer traitent du méthylmercure et des PCB pour les contaminants, et des AGPI LC n-3 pour les nutriments. La vitamine D, comme cela a été présenté dans la synthèse bibliographique, est rarement considérée (Becker et al., 2007), de même que les autres nutriments d'intérêt. De plus, des interactions ont été reportées entre les contaminants et/ou les nutriments apportés par les produits de la mer : méthylmercure et PCB, méthylmercure et sélénium, méthylmercure et AGPI LC n-3 (Rice, 2008). Il est difficile de prendre en compte ces interactions dans une analyse risque-bénéfice, dans la mesure où peu de données sont disponibles sur les apports à partir desquels l'interaction se manifeste, et que les mécanismes sont souvent peu connus. Cependant, du simple fait de leur existence il est nécessaire de considérer l'ensemble des composés interagissant les uns avec les autres dans l'évaluation risque-bénéfice. Les ANC et BNM, ainsi que certaines VTR sont définis sur la base de données épidémiologiques chez l'homme. Dans ce cas, les interactions existant à des doses ou apports correspondant à une alimentation « normale » seront donc intrinsèquement prises en compte dans la définition même des valeurs de référence nutritionnelles et toxicologiques.

6.3.1 Méthodologie développée

La méthodologie qui a été développée dans le cadre de la 5^e étude (chapitre 4.6) pour l'analyse risque-bénéfice se veut avant tout généraliste. L'objectif n'était pas de développer une méthode pour le risque-bénéfice de la consommation de produits de la mer uniquement mais de pouvoir l'étendre à d'autres groupes d'aliments le cas échéant, et d'autres substances. Les clusters auraient pu être construits uniquement sur la base des nutriments et contaminants d'intérêt présélectionnés, mais de façon plus générale, les clusters de produits doivent pouvoir être utilisables pour d'autres analyses risque-bénéfice, et donc inclure l'intégralité des nutriments et contaminants pour lesquels l'information est disponible.

Il convient de considérer que la méthodologie développée ici (et les résultats) sont entièrement conditionnés par les référentiels toxicologiques et nutritionnels retenus. Dans ce travail, ont été utilisées les valeurs de références toxicologiques retenues par le comité d'experts spécialisés sur les résidus et contaminants chimiques et physiques de l'ANSES en 2010 pour l'évaluation des risques. Concernant les valeurs nutritionnelles, ont été retenues les valeurs décrites dans les ANC de 2001 (Martin et al., 2001). Le comité d'experts spécialisés sur l'alimentation et la nutrition humaine a cependant souligné que pour certains nutriments, il conviendrait de réévaluer le besoin et l'ANC au regard de nouvelles données, notamment d'observations plus récentes sur les apports en population générale. De même, ainsi que certaines VTR ont été revues ces dernières années, de nouvelles

données pourraient conduire à leur réévaluation. Si les ANC ou les référentiels toxicologiques venaient à être révisés, les résultats des simulations s'en trouveraient modifiés.

6.3.2 Définition des clusters

La plupart des recommandations de consommation de poisson s'appuie sur la différence poissons gras versus maigres (voir chapitre 2.3.1). La plupart de ces recommandations converge vers une consommation de deux portions par semaine, dont un poisson gras. Or la distinction poissons gras versus maigres n'est pas suffisante. Pour une même teneur en lipides totaux, deux espèces de poissons peuvent présenter des teneurs en EPA et DHA très différentes. A titre d'exemple, avec une teneur en lipides totaux équivalente et de l'ordre de 4 g/100 g, la roussette (*Scyliorhinus canicula*) et le maquereau (*Scomber scombrus*) présentent des teneurs en EPA et DHA respectivement de 0,1-0,2 mg/100 g et 2-4,5 g/100 g (Bemrah et al., 2009). Recommander la consommation de poissons gras, sans spécification d'espèces, ne garantit donc pas un choix du consommateur qui lui permette d'atteindre l'ANC (AFSSA, 2010f). Ainsi, il était important de définir des clusters de produits proches du point de vue de leurs teneurs en nutriments et contaminants.

Les espèces sous formes fraîches ou surgelées n'ont pas été traitées avec les formes fumées ou en conserve, car les concentrations en nutriments et contaminants peuvent être très différentes selon les formes de conservation (Sirot et al., 2008b). Ces différences s'expliquent en partie par des zones de pêche différentes en fonction de la destination finale du poisson, s'il est destiné à être consommé directement ou s'il est destiné à une production massive (conserve ou fumage par exemple). De plus, il existe des gradients de concentrations lipidiques dorso-ventral et antéropostérieur dans le muscle de poisson. Les parties utilisées pour les conserves ne sont pas nécessairement celles directement consommées fraîches. Ainsi les concentrations en lipides et donc en composés lipophiles sont susceptibles de différer entre les différentes formes de conservation. Enfin dans le cas des conserves, le milieu utilisé pour la conservation ou l'accompagnement du poisson impacte de façon importante sur la composition du produit consommé. Comparativement aux espèces consommées fraîches, les poissons en conserve sont plus riches en acides oléique, arachidonique ou linoléique, qui sont communément trouvés dans les huiles. Ainsi il convient bien de considérer séparément les différentes formes de conservation des espèces, dès lors que les données sont disponibles.

Les clusters diffèrent significativement les uns des autres principalement sur la base des concentrations en lipides totaux, acides gras et composés lipophiles. Du point de vue nutritionnel, l'anguille est l'espèce la plus riche en acides gras saturés, en rétinol et en vitamines D et E. Elle se distingue aussi comme étant la plus concentrée en PCB-DL, PCB totaux et PBDE, ce qui est cohérent avec le fait qu'il s'agit d'une espèce fortement bioaccumulatrice. L'anguille n'a pas été retenue dans l'analyse risque-bénéfice, compte tenu des récents avis de l'AFSSA recommandant la non commercialisation et la non consommation d'anguilles pêchées dans de nombreux cours d'eau français et considérées en moyenne non conformes aux limites réglementaires (AFSSA, 2009j, AFSSA, 2009f, AFSSA, 2009i, AFSSA, 2010e, AFSSA, 2010d). Le maquereau fumé ne se distingue

pas significativement des clusters 3, 4 et 5 pour les teneurs en contaminants. Il ne pouvait néanmoins être traité avec l'un de ces clusters dans la mesure où il est significativement plus riche en EPA+DHA (facteur 2 à 26). Par ailleurs, le maquereau fumé étant très peu consommé en population générale (4 déclarations dans l'étude INCA2), il n'a pas été retenu dans l'analyse risque-bénéfice. Ainsi seuls les clusters 3, 4 et 5 ont été intégrés dans le modèle.

6.3.3 Consommation optimale de produits de la mer définie par le modèle

Les résultats des simulations d'exposition montrent qu'il n'y a pas de solution satisfaisant toutes les contraintes. Elles sont donc incompatibles entre elles. En les écartant une par une, la vitamine D apparaît comme le facteur limitant. Il est donc impossible, compte tenu des contraintes du modèle, d'atteindre l'ANC fixé pour la vitamine D. Il faut de plus rappeler le fait que les apports en vitamine D estimés par l'étude INCA2 ne tiennent pas compte des apports par les compléments alimentaires et les aliments enrichis pour raison de santé publique. C'est le cas par exemple de certains produits laitiers, enrichis en vitamine D pour les enfants et adolescents dont les apports sont trop bas (AFSSA, 2006e). Ainsi, l'apport bruit de fond de vitamine D pris en compte dans l'analyse, est certainement sous-estimé.

Par conséquent la maximisation de l'apport de vitamine D et la minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique ont été testées séparément, mais donnent des résultats équivalents pour les scénarii 1 et 2, ainsi que la maximisation de l'apport de vitamine D dans le scénario 3 (Tableau 25, Tableau 27, Etude 5). Dans ce même scénario, la minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique conduit à une consommation résultant en un apport en vitamine D bien plus faible (8,97 µg/j via la consommation de produits de la mer, contre 15,1 à 17,7 µg/j pour les autres scénarii), pour une exposition à l'arsenic inorganique équivalente. Ce scénario a donc été écarté, de même que les résultats de la minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique dans le scénario 4 pour les mêmes raisons (apport de vitamine D de 8,8 µg/j). Enfin, les résultats du scénario 4 testant la maximisation de l'apport de vitamine D ont également été écartés car une consommation de 787 g/sem de poissons maigres, soit une portion par jour environ, n'apparaît pas réaliste en population générale en termes de recommandations alimentaires, et compte tenu de la consommation d'autres produits protéinés (viande et œufs notamment).

La consommation optimale apparaît donc être la combinaison suivante :

- 181 à 213 g/sem de poissons gras parmi : Espadon, Hareng frais, surgelé ou fumé, Flétan, Saumon frais, surgelé ou fumé, Maquereau en conserve, Sardine en conserve ;
- 26 à 72 g/sem de poissons maigres, mollusques ou crustacés.

L'apport de vitamine D correspondant s'élève à 17,7 µg/sem par la seule consommation de produits de la mer, soit 2,5 µg/j. En considérant le reste du régime, l'apport final s'élèverait à 4,1 µg/j, soit 83%

de l'ANC. L'exposition à l'arsenic inorganique est quant à elle de 0,08 µg/kg pc/sem par la seule consommation de produits de la mer, soit 0,1 µg/kg pc/j. En considérant le reste du régime, l'exposition totale serait de 0,248-0,284 µg/kg pc/j, selon les hypothèses de spéciation de l'arsenic inorganique (basses ou hautes) considérées, des valeurs équivalentes à celles estimées en population générale (ANSES, en cours).

Il est important de noter que ces consommations optimales sont compatibles avec l'alimentation générale des français. L'étude INCA2 montre une consommation quotidienne de 31 g/j de poissons, mollusques et crustacés, soit 217 g/sem. La consommation optimale totale proposée s'élève à 239 g/sem (scénario 1) ou 253 g/sem (scénario 2). Une telle consommation paraît atteignable sans modification importante du reste du régime et donc des apports et expositions « bruit de fond », ce qui permet de valider le modèle utilisé. Il ne semble pas souhaitable de proposer une consommation optimale entraînant une modification profonde de l'alimentation générale, car une telle recommandation aurait peu de chance d'être suivie par le consommateur.

La consommation optimale est donnée sous forme de fourchettes de consommation dans la mesure où l'on peut tenir compte, ou non, des préférences alimentaires des consommateurs. La combinaison 213+26 g/sem (scénario 1) n'en tient pas compte, la combinaison 181+72 g/sem (scénario 2) au contraire en tient compte. La combinaison qui n'en tient pas compte implique que le choix d'une espèce dans le cluster doit se faire de façon aléatoire. Ainsi chaque espèce a la même probabilité d'être consommée et la consommation peut alors effectivement permettre d'atteindre un apport de vitamine D maximal et une exposition à l'arsenic inorganique minimale tout en garantissant l'atteinte des ANC ou BNM pour les autres nutriments considérés, et en restant en-dessous des VTR pour les contaminants considérés. Néanmoins, il est peu probable que cela soit le cas. Même si la recommandation inclut un message de ce type sur la diversification des espèces, il est probable que les consommateurs ne le suivent pas, ou le suivent un temps puis qu'ils privilégient à nouveau leurs habitudes passées et leurs préférences, et oublient tout ou partie du message (Verger et al., 2007).

Il semblerait que les messages concernant les effets négatifs de la consommation soient plus à même d'influencer les consommations et la perception du consommateur que les messages positifs (Robenstein and Thurman, 1996, Kinnucan et al., 1997, Verbeke and Ward, 2001). Ainsi les consommateurs seraient plus influencés dans leurs choix par les effets négatifs des contaminants présents dans le poisson que par les effets bénéfiques. Les jeunes adultes (moins de 25 ans) semblent mieux connaître les contaminants présents dans le poisson et leurs effets négatifs, pouvant expliquer leur moindre consommation par rapport aux sujets âgés (Verbeke et al., 2005). De plus, il a plusieurs fois été observé que les messages santé étaient susceptibles d'avoir plus d'impact sur la demande alimentaire que les variations de prix (Kinnucan et al., 1997, Verbeke and Ward, 2001). Dans une étude belge, il a été observé une faible influence des prix sur la demande de viande pendant la période 1995-1998, période à laquelle les média rapportaient les risques potentiels associés à la consommation de viande lors de la crise de l'ESB (Verbeke and Ward, 2001). Verger et al (2007) ont montré qu'une recommandation relative au risque-bénéfice de la consommation de poisson (méthylmercure et oméga 3) entraînait une baisse significative de la consommation de

poisson chez des femmes en âge de procréer (24-38 ans) et leurs enfants de moins de 15 ans (Verger et al., 2007). Les choix du consommateur apparaissent complexes et dépendent de nombreux facteurs socioéconomiques qu'il convient de considérer dans la mise en place de recommandations de santé publique.

L'option tenant compte des préférences alimentaires permet de palier le biais lié aux préférences alimentaires. Les résultats apparaissent sensiblement différents (Tableau 25). La consommation de poissons gras du cluster 4 est moindre que dans le scénario précédent, et la consommation du cluster 5 est plus élevée. Le saumon frais est l'espèce la plus consommée dans le cluster 4 : 47% (Tableau 23). Il est plus riche en EPA+DHA et en vitamine D que les autres espèces du cluster, il est donc possible d'en consommer moins pour atteindre les mêmes niveaux d'apports en EPA+DHA et en vitamine D. Parallèlement, le saumon n'est pas le plus riche en contaminants. Dans le cluster 5, le cabillaud et le colin sont les espèces les plus consommées : 11% et 8%, respectivement, mais sont parmi les moins riches en sélénium. Par conséquent il est nécessaire d'en consommer plus pour atteindre l'ANC.

Ces résultats montrent bien que les teneurs en certains composants (certaines variables) des espèces d'un même cluster peuvent être très différentes. Ceci est lié au fait que les variables les plus discriminantes sont les lipides (dont EPA+DHA), la vitamine D et les contaminants lipophiles (Tableau 24), les autres variables influant donc peu sur la composition des clusters.

L'apport final d'arsenic inorganique par la consommation de produits de la mer est légèrement supérieur dans le scénario 2, intégrant les préférences alimentaires, par rapport au scénario 1. L'apport de vitamine D est quant à lui inférieur. La différence entre les 2 scénarii est à relativiser car, en considérant l'apport bruit de fond moyen, l'apport individuel total en vitamine D s'élèverait dans le scénario 1 à 4,1 µg/j et dans le scénario 2 à 3,8 µg/j, soit une différence de 7% seulement, ou 6% de l'ANC. Néanmoins, ces résultats montrent que les préférences alimentaires des consommateurs concernant les espèces de poissons consommées ne sont pas en faveur d'une balance risque-bénéfice positive, par rapport à une plus grande diversification. Il serait donc préférable pour la formulation de recommandations, d'insister sur le choix aléatoire d'une espèce parmi celles citées.

L'existence d'une association significative entre la consommation de poisson et les accidents hémorragiques ayant été écartée en l'absence d'éléments suffisants (FDA/CFSSAN, 2009), il n'a pas été proposé de limite supérieure d'apports pour la somme EPA+DHA. Néanmoins, pour une consommation supérieure à 200 g de poissons très gras par semaine en plus de la consommation d'autres produits de la mer, il a été montré l'absence de bénéfice supplémentaire en termes de biomarqueur de santé cardiovasculaire (taux d'EPA+DHA dans la membrane érythrocytaire) (Etude 3). Aussi, il a été proposé d'inclure la contrainte supplémentaire de consommation de 200 g/sem de poissons gras, étant donné que les poissons très gras tels que définis dans l'étude 3 ne constituaient pas un cluster à part entière. Par ailleurs cette contrainte de quantité permettait de limiter la consommation totale, et ainsi de chercher une solution plus proche encore de l'alimentation réelle de la population française.

La solution optimale (scenarii 1 et 2) a été appliquée aux équations développées par Ginsberg et Toal (2009) permettant d'évaluer les ratios risque-bénéfice cardiovasculaire et neurosensoriel. Le détail des calculs est présenté en annexe 4. Un ratio supérieur à 1 indique que le bénéfice est supérieur au risque. Quel que soit le scénario considéré, le bénéfice cardiovasculaire comme neurosensoriel est supérieur au risque (Tableau 28).

Tableau 28. Ratios risque-bénéfice cardiovasculaire et neurosensoriel pour les scenarii 1 et 2

Scenarii	Consommations (g/sem)		Apports et exposition		Ratios risque-bénéfice	
	Cluster 4	Cluster 5	MeHg, µg/kg pc/sem	EPA+DHA, mg/j	Cardiovasculaire	Neurosensoriel
1*	213	26	0,49	1038	1,48	15,8
1**	200	36	0,48	986	1,41	14,9
1***	200	75	0,54	997	1,41	14,5
2	181	72	0,31	945	1,40	17,6

MeHg : méthylmercure ; *sans la contrainte de consommation maximale de 200 g de poissons gras par semaine ; **avec la contrainte de consommation maximale de 200 g de poissons gras par semaine, minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique ; ***avec la contrainte de consommation maximale de 200 g de poissons gras par semaine, maximisation de l'apport de vitamine D.

6.3.4 Avantages et limites du modèle

6.3.4.1 Avantages du modèle

Par rapport aux analyses risques-bénéfices de la consommation de poisson de la littérature, en particulier réalisées à partir de données européennes, cette analyse s'appuie en partie sur des données récentes. Les expositions « bruit de fond » aux contaminants (méthylmercure, arsenic inorganique, cadmium, dioxines et PCB) sont issues de la 2^{nde} EAT française (EAT2), qui combine des données de consommation récentes (INCA2, 2006-2007) et des données de contamination d'un échantillonnage réalisé en 2007-2009. De plus, les aliments échantillonnés ont été sélectionnés selon les consommations d'INCA2 et préparés tels que consommés, ce qui rend l'exposition calculée plus réaliste que celles souvent calculées sur des aliments bruts de type plans de surveillance.

Comparativement aux évaluations françaises précédentes (AFSSA, 2005a, AFSSA, 2007b, AFSSA, 2010f), l'exposition aux dioxines et PCB de la population adulte a été considérablement réduite, d'un facteur 4 environ. Ceci tient du fait que d'une part, les évaluations françaises de l'exposition aux dioxines, PCB-DL et PCB-NDL s'appuyaient sur des données de plans de surveillance et de contrôle qui pour partie n'étaient pas représentatifs des consommations des français. Les contaminations, et par conséquent l'exposition, s'en trouvaient donc surestimées. Par exemple, l'estimation faite par l'AFSSA en 2009 montrait que 50% des enfants de moins de 10 ans, même non consommateurs de

poissons, dépassaient la VTR établie pour les PCB totaux, sur la base des données de consommation de l'étude INCA2 et des données de contamination des plans de surveillance (AFSSA, 2009a, AFSSA, 2010f). Sur la base des mêmes données de consommation, mais avec des données de contamination représentatives des consommations alimentaires, l'EAT2 a montré des dépassements de moins de 5% chez les adultes comme chez les enfants (ANSES, en cours). De plus, les teneurs dans les aliments ont été réduites entre 2000-2005 (données correspondant aux évaluations de 2005 et 2007) et 2007-2009 (correspondant à l'évaluation de 2010). Les contaminations comme l'exposition tendent à diminuer depuis les années 80 (AFSSA, 2010f), c'est-à-dire depuis l'interdiction d'utilisation des PCB et la mise en place de la réglementation sur les teneurs dans les aliments (Règlement (CE) No 2375/2001, 2001, Règlement (CE) No 199/2006, 2006).

Cette réduction est concordante avec les données d'imprégnation biologique enregistrées ces dernières années. L'étude AFSSA/InVS sur les usines d'incinération d'ordures ménagères a montré que 90% de la population présentaient des résultats d'imprégnation en PCB en-deçà des valeurs en-dessous desquelles le risque sanitaire est négligeable. Or dans le cas des PCB, l'imprégnation reflète bien l'exposition réelle sur le long terme, alimentaire, mais aussi environnementale et professionnelle. Ces nouvelles données permettent de considérer une marge dans l'exposition bruit de fond, ou crédit toxicologique, qui n'existait pas lors des précédentes évaluations françaises. Environ 20% des adultes, et 20% des femmes en âge de procréer dépassaient déjà la DJT fixée pour les PCB totaux (AFSSA, 2007b). L'exposition aux dioxines et PCB-DL cumulée sur la vie entière dépassait également la DMTP pour 20 à 28 % de la population, mais sans dépassement pour les dioxines et furanes considérés seuls (AFSSA, 2005a). Comme mentionné plus haut, l'évaluation de 2009 montrait toujours des dépassements des VTR dans certaines catégories de la population, à partir d'une consommation de deux poissons gras (>2% de lipides, les plus riches en dioxines et PCB) par semaine (AFSSA, 2010f). Or les résultats de l'étude 5 montrent à présent, avec les nouvelles données d'exposition (ANSES, en cours), qu'une consommation équivalente à deux poissons gras par semaine n'entraîne pas nécessairement de dépassements des DHTP. La consommation optimale inclut même la consommation d'autres produits de la mer.

Cet exemple souligne l'importance, pour l'évaluateur du risque, de disposer non seulement de données de bonne qualité mais aussi de données récentes, et représentatives des consommations de la population à un temps t proche de l'évaluation. L'évaluation du risque doit refléter au mieux la réalité afin d'orienter la prise de mesures de gestion adaptées à la situation réelle. La reconduction des évaluations du risque dans le temps sont également un outil permettant d'apprécier l'efficacité de ces mesures de gestion et des recommandations de consommation afin de les modifier, les assouplir, les réorienter le cas échéant.

6.3.4.2 Limites du modèle

Dans le modèle, il a aussi été tenu compte des apports nutritionnels « bruit de fond » de la population, estimés à partir des données de l'étude INCA2 (AFSSA, 2009k). Comme déjà mentionné, il n'a pas été tenu compte des apports par les aliments enrichis ou les compléments alimentaires. Il n'a pas été

possible de modéliser les apports supplémentaires liés à cette consommation, dans le contexte actuel de discussions aux niveaux français et européen sur les limites maximales d'enrichissement des aliments.

De plus, il conviendrait de réévaluer les contaminations des produits de la mer par un nouvel échantillonnage et de nouvelles analyses. En effet, si les données utilisées pour l'exposition « bruit de fond » sont récentes (EAT2), celles des produits de la mer datent de 2004-2005 (Etude Calipso qui comportaient beaucoup plus d'espèces que l'EAT2). Compte tenu des éléments précédemment évoqués sur les dioxines et PCB par exemple, l'on pourrait s'attendre à des teneurs moins élevées à présent dans les produits de la mer.

Certains composés d'intérêt n'ont pas été pris en compte dans l'analyse risque-bénéfice. Les PBDE, par exemple, bien que les produits de la mer en soit le contributeur alimentaire principal (>50%) (AFSSA, 2006d), n'ont pas été intégrés au modèle car il n'existe pas de VTR pour ces composés à l'heure actuelle. Néanmoins, les modes d'action des PBDE et des PCB-NDL étant relativement proches, il pourrait être suggéré de traiter ensemble les risques liés aux PBDE et PCB.

Il n'a pas été tenu compte non plus des dépassements non significatifs des limites de sécurité (iode, sélénium, vitamine D) qui sont néanmoins très bas en amplitude (non présenté). L'absence de dépassement significatif peut être due à un problème de puissance dans la population d'étude et il conviendrait de s'assurer que certains profils de consommateurs atypiques ne pourraient dépasser de façon significative les limites de sécurité. Ce pourrait être le cas par exemple chez des forts consommateurs de produits laitiers, qui contribuent à l'apport d'iode à hauteur de 26% en population générale (AFSSA, 2009k).

Le risque pour le neuro-développement du fœtus et du jeune enfant semble maîtrisé. Suivre la consommation optimale entraîne en moyenne une exposition au méthylmercure, pour les scénarii 1 et 2, de 0,49 et 0,31 $\mu\text{g/kg pc/sem}$, respectivement (Tableau 26), soit 31% et 19% seulement de la VTR. En revanche, le risque cardiovasculaire pour les sujets plus âgés ne serait pas négligeable compte tenu des éléments de la littérature et des teneurs en méthylmercure sanguines que l'on peut observer chez les forts consommateurs, consommant des produits de la mer au moins deux fois par semaine, se situant donc dans la fourchette de la consommation optimale. Cependant une consommation élevée de produits de la mer tend à améliorer le statut antioxydant, dont le statut en sélénium, ce qui pourrait réduire les effets cardiovasculaires du méthylmercure (Tanguy et al., 2003, Mozaffarian, 2009). D'autres études sont nécessaires pour vérifier les effets du méthylmercure sur la santé cardiovasculaire.

Compte tenu de la récente proposition par le JECFA d'une BMDL pour l'arsenic inorganique sans proposition de nouvelle VTR remplaçant la précédente de 15 $\mu\text{g/kg pc/sem}$ (JECFA, 2010a), il a été décidé de ne pas prendre en compte de VTR dans l'analyse. L'objectif était donc de réduire l'exposition au maximum, afin d'augmenter les marges d'exposition. Cependant la consommation optimale proposée ne permet pas de réduire l'exposition à l'arsenic inorganique de façon significative par rapport à la situation actuelle en population générale. L'exposition liée au bruit de fond apparaît

encore trop importante, moins de 5% provenant des produits de la mer, ce qui nécessitait d'être vérifié en population générale. L'eau de boisson en particulier est un vecteur trop important d'arsenic inorganique. Il apparaît donc nécessaire de porter l'effort avant tout sur une réduction des concentrations de l'eau de boisson.

6.3.4.3 Perspectives en termes d'amélioration du modèle

La méthodologie proposée n'intègre pas la variabilité intrapopulationnelle. Elle s'appuie sur un individu adulte « moyen » de l'étude de consommation INCA2 étant donné que les apports et expositions bruit de fond proviennent du croisement des données de consommation d'INCA2 avec différentes sources de données pour la composition et la contamination. La variabilité qui existe dans les apports et les expositions, qui est due à la variabilité de consommation mais aussi de composition et contamination, n'est pas prise en compte. Il n'est cependant pas possible de définir une consommation qui puisse être l'optimal pour chaque sujet. Un moyen d'intégrer la variabilité existant dans la population serait de reposer le problème, mais pour différents sous-groupes de population. Un avantage serait de pouvoir tenir compte des préférences alimentaires en termes d'espèces consommées, qui peuvent être très différentes d'une population à l'autre. Par exemple, les sujets âgés consomment significativement plus de hareng ou de raie que les adultes de moins de 65 ans (Bemrah et al., 2009). Il convient de noter que l'analyse s'est appuyée sur des préférences alimentaires issues de l'étude Calipso. Pour 70% des espèces testées, la part dans la consommation totale est équivalente à celle de la population générale (Annexe 3). Parmi les espèces les plus consommées en population générale, le thon en conserve et les crevettes (7-11%) sont moins consommés, en proportion, dans la population de l'étude Calipso (4-5%), ce qui est susceptible de constituer un biais dans l'estimation de la consommation du cluster 5. Il conviendrait d'acquérir des données de consommation sur l'ensemble des produits intégrés dans l'analyse, afin de tenir compte des préférences réelles de population générale.

Utiliser un modèle par sous-groupe aurait aussi l'avantage de pouvoir favoriser l'une ou l'autre des contraintes, en fonction de la population cible : méthylmercure ou PCB pour les femmes en âge de procréer par exemple au regard du risque pour le développement du fœtus, ou les jeunes enfants, vitamine D ou sélénium pour les personnes âgées, etc.

Un dernier avantage serait de tenir compte des apports et expositions propres à chaque sous-groupe de population et de lui appliquer son BNM ou ANC propre, et non une valeur moyenne. Les besoins nutritionnels sont souvent très différents entre adultes et enfants par exemple. Les VTR également, si elles sont plus souvent appliquées à l'ensemble de la population, sont définies sur la base d'un effet critique et sur une population critique. Les potentiels dépassements de VTR pour le reste de la population sont ainsi parfois à relativiser, comme cela est le cas pour les PCB (AFSSA, 2010c). De la même façon la VTR du méthylmercure a été définie sur la base des effets observés chez l'enfant suite à l'exposition de la mère pendant la grossesse. Les dépassements éventuels de VTR chez les femmes plus âgées ou les hommes sont donc à interpréter en tenant compte de ces éléments. Chez les sujets souffrant de maladies cardiovasculaires, l'*American Heart Association* recommande un apport de 1000 mg EPA+DHA/j. Cet apport n'est pas atteint avec la consommation optimale proposée

pour les produits de la mer, mais une consommation spécifique pour cette population pourrait être déterminée en modifiant en conséquence la contrainte liée à l'apport d'EPA+DHA dans le modèle.

Un autre axe d'amélioration serait de développer un algorithme d'optimisation permettant d'intégrer différents pourcentages de tolérance autour des référentiels toxicologiques et nutritionnels, afin d'assouplir certaines contraintes, sans les éliminer. Une façon de considérer une tolérance autour de ces référentiels serait de tenir compte de l'ensemble des résultats apportés par l'analyse des biomarqueurs. Dans le cas des PCB par exemple, la VTR a été fixée afin de protéger l'enfant exposé *in utero*. Les dépassements de VTR en population générale ont été relativisés compte tenu du fait que plus de 90% des adultes présentent des concentrations plasmatiques en PCB inférieures aux seuils d'imprégnation critiques (AFSSA, 2010c).

Plutôt que d'évaluer le bruit de fond, il pourrait être évalué à travers des biomarqueurs le statut des consommateurs, à la fois nutritionnel et pour les contaminants. Pour les contaminants, les biomarqueurs permettent de tenir compte des voies d'exposition autres qu'alimentaire (environnementale, professionnelle). Pour les nutriments, les biomarqueurs tiennent compte des apports par l'alimentation (notamment enrichie) mais aussi par les compléments alimentaires. Une consommation optimale pourrait être déterminée, permettant d'améliorer le statut nutritionnel du consommateur en tel ou tel nutriment d'intérêt, et/ou de réduire le risque lié à l'exposition à tel ou tel contaminant, en s'appuyant sur des relations doses-réponses entre la consommation et des biomarqueurs d'intérêt. Il conviendrait pour cela d'identifier les biomarqueurs pertinents (biomarqueur de statut nutritionnel pour les nutriments, biomarqueur d'effet indésirable pour les contaminants) et de disposer à la fois de données biologiques sur l'ensemble de la population et de relations doses-réponses entre la consommation et les biomarqueurs pour cette même population. Des études sont disponibles par exemple sur l'association entre consommation alimentaire et biomarqueur de santé cardiovasculaire (Welch et al., 2006, Mina et al., 2007), ou entre consommation et biomarqueur d'effet neurotoxique (Bjornberg et al., 2005, Airaksinen et al., 2010). Cependant, ces études sont souvent limitées à certaines populations spécifiques, et à un ou deux biomarqueurs, pour un nombre d'effets santé limité. L'utilisation des biomarqueurs d'effets plutôt que des VTR dans l'analyse risque-bénéfice nécessite encore de nombreuses recherches.

6.3.5 Interprétation de la consommation optimale en termes de recommandations

Toute la difficulté dans l'interprétation des consommations optimales réside dans la marge que l'on est prêt à accorder dans le risque et le bénéfice. En considérant un risque acceptable pour l'ensemble des contaminants pour lesquels une VTR a seuil existe (méthylmercure, dioxines et PCB, cadmium), il n'est pas possible, à l'heure actuelle, compte tenu du reste de l'alimentation (régime moyen), d'atteindre l'ANC pour la vitamine D et une exposition à l'arsenic inorganique jugée acceptable, sans risque pour la santé. Sachant cela, jusqu'à quel risque pour l'arsenic inorganique peut-on être prêt à

déroger à la consommation optimale ? Et jusqu'à quel moindre bénéfice lié à la vitamine D peut-on être prêt à déroger à la consommation optimale ?

Pour la population générale, la consommation optimale permet d'assurer un apport maximal en vitamine D, tout en garantissant une exposition minimale à l'arsenic inorganique. Les besoins en EPA+DHA, sélénium et iode sont couverts, sans dépassement des VTR pour le cadmium, les dioxines et PCB, et sans dépassement des limites de sécurité pour le zinc, le calcium et le cuivre. Cependant, en appliquant le modèle par sous-groupe de population, il est probable que la maximisation de l'apport de vitamine D et la minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique ne donnent pas la même solution. Compte tenu du fait que la consommation de produits de la mer contribue finalement très peu (moins de 5%) à l'exposition à l'arsenic inorganique, l'évaluateur du risque devrait vraisemblablement privilégier l'apport de vitamine D, dont les faibles apports posent un véritable problème de santé publique. Quelle que soit la population considérée, l'arsenic inorganique restera l'élément limitant du modèle. Il relève du choix du gestionnaire et de l'expert de travailler à la réduction de contamination de l'eau en priorité car même si la contamination des produits de la mer diminue, l'eau continuera de contraindre le modèle. Cet élément est nouveau par rapport à la précédente analyse risque-bénéfice de la consommation de poissons française (AFSSA, 2010f). Les experts avaient décidé de ne pas tenir compte de l'arsenic inorganique parmi les contaminants considérés, mais uniquement du méthylmercure et des dioxines et PCB.

Néanmoins, d'autres combinaisons de consommation sont certainement envisageables, permettant également de rester en-dessous des VTR à seuil pour le méthylmercure, les dioxines et PCB et le cadmium, en-dessous des limites de sécurité pour le zinc, le calcium et le cuivre, et d'atteindre les ANC pour l'EPA+DHA, l'iode et le sélénium. Le modèle montre que la consommation d'espèces du cluster 3 (Bar ou loup, Maquereau frais, Rouget, Sardine fraîche, Anchois frais, Dorade, Crabe ou tourteau frais, Anchois en conserve, Tarama, terrine ou mousse de poissons) n'entraîne pas une balance risque-bénéfice favorable. De la même façon que les mollusques et crustacés seuls ne ressortent pas dans la consommation optimale. Cependant, si les clusters 3 et 4 étaient regroupés (comme les mollusques et crustacés sont regroupés avec les poissons maigres), leur consommation pourrait sans doute être envisagée, mais avec des résultats d'apports et d'exposition moins bons que ceux de la consommation optimale. Dans la mesure où l'ANC pour la vitamine D n'est pas atteignable, peut-on recommander ces autres combinaisons, moins bonnes pour le statut vitaminique D ?

Il faut également garder à l'esprit que l'ANC pour la vitamine D a été déterminé pour l'ensemble de la population, mais que la synthèse endogène a également un rôle primordial dans l'apport total de vitamine D. La non atteinte de l'ANC doit être relativisée au regard d'un besoin vraisemblablement moindre pour les populations les plus exposées à l'ensoleillement (gradient nord-sud, personnes âgées, etc). Si chez le sujet âgé, de la même façon que pour les femmes enceintes, le statut vitaminique D est amélioré par la consommation proposée, l'apport recommandé de 10 µg/j n'est toutefois pas encore atteint compte tenu des besoins accrus et d'une exposition éventuellement faible au soleil.

Chez les femmes enceintes ou allaitantes, les besoins en iode qui sont plus élevés que chez les autres adultes (200 µg/j contre 150 µg/j), sont également couverts par l'alimentation générale et le suivi de la consommation optimale de produits de la mer. Une grossesse entraîne également des besoins accrus en vitamine D (10 µg/j contre 5 µg/j), et la consommation optimale permet d'améliorer le statut vitaminique des femmes enceintes. Les risques liés aux effets du méthylmercure sur le neuro-développement du fœtus et du jeune enfant sont maîtrisés et négligeables au regard de la VTR. Plus particulièrement, les recommandations de santé publique d'évitement des espèces les plus contaminées par le méthylmercure (AFSSA, 2004, AFSSA, 2006c, AFSSA, 2009d) permettent de limiter les comportements alimentaires atypiques (forts percentiles d'exposition) susceptibles d'entraîner un risque pour le fœtus.

Ces éléments soulignent l'importance de reconduire l'analyse risque-bénéfice pour différents sous-groupes de population, en particulier les groupes identifiés comme à risque vis-à-vis de certains nutriments ou contaminants.

L'établissement de recommandations de consommation, au-delà de la détermination des consommations optimales qui en constitue le préalable, est l'étape finale qui doit tenir compte d'autres facteurs, notamment socio-économiques, comme la disponibilité des ressources, le coût des aliments et la diversification alimentaire. La multiplication, le contenu et le caractère évolutif des recommandations peuvent les rendre complexes aux yeux du consommateur, et la littérature souligne la difficulté de mémorisation des messages complexes. Il est par conséquent nécessaire de prévoir des mesures d'accompagnement pour aider le consommateur à s'approprier les messages de santé publique.

7 Conclusion générale

L'alimentation apporte à la fois des nutriments nécessaires au fonctionnement de l'organisme et des contaminants susceptibles d'impacter sur la santé. Ces deux aspects sont à considérer dans la détermination des recommandations de consommations alimentaires. Ce travail de thèse a permis de développer une méthodologie d'analyse du risque et du bénéfice de la consommation et de l'appliquer à la consommation de produits de la mer.

Nous avons dans un premier temps sélectionné les nutriments et contaminants pertinents, à l'apport desquels les produits de la mer contribuent. Puis l'analyse risque-bénéfice a consisté en l'optimisation des apports nutritionnels et de l'exposition aux contaminants par les produits de la mer, en tenant compte des apports par le reste du régime. Nous avons montré qu'une consommation d'environ 200 g/semaine de certaines espèces de poissons gras et d'environ 50 g/semaine de poissons maigres, mollusques ou crustacés, permettait à la fois de minimiser l'exposition à l'arsenic inorganique et de maximiser l'apport de vitamine D, tout en garantissant l'atteinte de l'apport nutritionnel conseillé pour les acides gras polyinsaturés à longue chaîne de la famille des oméga 3, le sélénium et l'iode, le non dépassement des valeurs toxicologiques de référence établies pour le méthylmercure, le cadmium, les dioxines et polychlorobiphényles, ainsi que le non dépassement des limites de sécurité établies pour le zinc, le calcium et le cuivre. Cette consommation, qualifiée comme optimale dans notre travail, contribue à l'amélioration du statut en vitamine D de la population française dont les apports sont bas. Par ailleurs elle n'entraîne pas de risque supplémentaire quant à l'exposition à l'arsenic inorganique considérée comme trop élevée en population générale. L'apport d'arsenic inorganique par l'eau – et non par les produits de la mer – demeure le facteur limitant du modèle car il est déjà trop élevé par rapport au risque toxicologique. Il est du ressort du gestionnaire du risque de prendre des mesures afin de réduire cette exposition.

Notre travail, transposable à d'autres catégories d'aliments, illustre la complexité de l'analyse risque-bénéfice comme appui à la décision dans la mise en œuvre des politiques de santé publique, et la nécessité pour l'évaluateur de disposer de données complètes et actualisées afin d'orienter la prise de mesures de gestion adaptées à la situation réelle, et leur modification le cas échéant. La détermination des consommations alimentaires optimales nécessite la prise en compte de nombreux facteurs parmi lesquels l'ensemble des nutriments et des contaminants apportés par le régime global et la diversité des sources alimentaires (espèces, variétés...) en termes de composition et de contamination. Les recommandations devraient être déclinées par sous-groupes de population, dont les besoins nutritionnels sont variables, et pour lesquels les effets toxiques des contaminants diffèrent. Pour beaucoup d'éléments, nutriments comme contaminants, l'identification des effets et la détermination des doses associées à ceux-ci nécessitent encore de nombreux travaux de recherche.

8 Références bibliographiques

- ADAMS, M., BOLGER, P. & GUNDERSON, E. 1994. Dietary intake and hazards of arsenic. In: CHAPPELL, W., ABERNATHY, C. & COTHERN, C. (eds.) *Arsenic: Exposure and Health Science and Technology Letters*. Northwood.
- AFSSA-CIQUAL. 2008. *Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqua 2008* [Online]. AFSSA. Available: www.afssa.fr [Accessed].
- AFSSA 2002a. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à l'exposition au mercure des femmes enceintes et allaitantes et des jeunes enfants. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2002b. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'existence éventuelle d'une corrélation significative entre les teneurs dans différents congénères de PCB. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2002c. Report on Salt: Evaluation and recommendations. Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2004. Avis relatif à la réévaluation des risques sanitaires du méthylmercure liés à la consommation des produits de la pêche au regard de la nouvelle dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP). Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2005a. Dioxines, furanes et PCB de type dioxine : Evaluation de l'exposition de la population française. Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2005b. Évaluation de l'impact nutritionnel de l'introduction de composés iodés dans les produits agroalimentaires. Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2006a. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation de l'exposition de la population française aux dioxines, furanes et PCB de type dioxine. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2006b. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques liés à la présence d'organoétains dans les aliments. Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2006c. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la consommation des poissons prédateurs pélagiques, en particulier l'espadon, à la Réunion vis-à-vis du risque sanitaire lié au méthylmercure. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2006d. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques liés à la présence de retardateurs de flamme bromés dans les aliments. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2006e. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation d'une gamme de spécialités fromagères pour enfants et adolescents, sources de calcium et enrichies en vitamine D. Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2007a. Apports en protéines : consommation, qualité, besoins et recommandations. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2007b. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'établissement de teneurs maximales pertinentes en polychlorobiphényles qui ne sont pas de type dioxine (PCB « non dioxin-like », PCB-NDL) dans divers aliments. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2008. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses du plan d'échantillonnage mis en place dans le cadre de la pollution en PCB des poissons du Rhône. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2009a. AST Bénéfices-risques liés à la consommation des produits de la mer - AQR/AT/2009-127. Saisine 2008-SA-0123. Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2009b. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation de l'enrichissement en sélénium d'une boisson lactée présentée comme destinée aux seniors ainsi que des allégations qui lui sont associées. Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2009c. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la teneur maximale en arsenic inorganique recommandée pour les algues laminaires et aux modalités de consommation de ces algues compte tenu de leur teneur élevée en iode. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2009d. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses du plan de surveillance des contaminants chimiques 2007, notamment la recherche de mercure dans les lamproies et les différentes espèces de Sélaciens. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2009e. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses en dioxines et PCB des poissons pêchés dans la rivière Doubs dans le cadre de la mise en oeuvre du plan national d'action sur les PCB. Maisons-Alfort, France: AFSSA.
- AFSSA 2009f. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses en dioxines et PCB des poissons pêchés dans le fleuve Rhône dans le cadre du plan national d'action sur les PCB (axe 3 sous-action 3.4 plan d'échantillonnage complémentaire dans les milieux aquatiques). Maisons-Alfort: AFSSA.
- AFSSA 2009g. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses en dioxines et PCB des poissons pêchés dans le fleuve Somme et certains de ses

affluents, et en vue de l'évaluation du risque, dans le cadre de la pollution en PCB, lié à la consommation de mollusques et crustacés récoltés en Baie de Somme. Maisons-Alfort, France: AFSSA.

AFSSA 2009h. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses en dioxines et PCB des poissons pêchés dans le fleuve Rhône dans le cadre du plan national d'action sur les PCB (axe 3 sous-action 3.4 plan l'échantillonnage complémentaire dans les milieux aquatiques). Maisons-Alfort, France: AFSSA.

AFSSA 2009i. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses en dioxines et PCB des poissons pêchés dans la rivière Doubs dans le cadre de la mise en oeuvre du plan national d'action sur les PCB. Maisons-Alfort: AFSSA.

AFSSA 2009j. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats d'analyses en dioxines et PCB des poissons pêchés dans le fleuve Somme et certains de ses affluents, et en vue de l'évaluation du risque, dans le cadre de la pollution en PCB, lié à la consommation de mollusques et crustacés récoltés en Baie de Somme. Maisons-Alfort: AFSSA.

AFSSA 2009k. Etude individuelle nationale des consommations alimentaires 2 (INCA2) - Individual and national study on food consumption 2. AFSSA.

AFSSA 2010a. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Maisons-Alfort: AFSSA.

AFSSA 2010b. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'exposition à la vitamine A préformée via l'aliment de la population française, notamment la femme enceinte et ménopausée. Maisons-Alfort, France: AFSSA.

AFSSA 2010c. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation sanitaire des niveaux d'impregnation de la population française en PCB. Maisons-Alfort: AFSSA.

AFSSA 2010d. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation sanitaires des résultats d'analyses en dioxines et PCB et mercure des poissons pêchés dans les cours d'eaux du bassin Rhin-Meuse dans le cadre du plan national d'action sur les PCB. Maisons-Alfort: AFSSA.

AFSSA 2010e. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation sanitaire des résultats d'analyses en dioxines et PCB et mercure des poissons pêchés dans les cours d'eaux du bassin Adour-Garonne dans le cadre du plan national d'actions sur les PCB. Maisons-Alfort: AFSSA.

AFSSA 2010f. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux bénéfices / risques liés à la consommation de poissons. Maisons-Alfort, France: AFSSA.

AFSSA en cours. Bénéfices nutritionnels et risques sanitaires pour l'Homme, liés à la consommation des poissons, mollusques et crustacés. Maisons-Alfort: AFSSA.

AHLQWIST, M., BENGTSSON, C., LAPIDUS, L., GERGDAHL, I. A. & SCHUTZ, A. 1999. Serum mercury concentration in relation to survival, symptoms, and diseases: results from the prospective population study of women in Gothenburg, Sweden. *Acta Odontol Scand*, 57, 168-74.

AHMAD, S., KITCHIN, K. T. & CULLEN, W. R. 2000. Arsenic species that cause release of iron from ferritin and generation of activated oxygen. *Arch Biochem Biophys*, 382, 195-202.

AIRAKSINEN, R., TURUNEN, A. W., RANTAKOKKO, P., MANNISTO, S., VARTIAINEN, T. & VERKASALO, P. K. 2010. Blood concentration of methylmercury in relation to food consumption. *Public Health Nutr*, 1-10.

AKAIKE, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans Autom Control*, 19, 716-723.

ALLEN, J. W., EL-OQAYLI, H., ASCHNER, M., SYVERSEN, T. & SONNEWALD, U. 2001. Methylmercury has a selective effect on mitochondria in cultured astrocytes in the presence of [U-(13)C]glutamate. *Brain Res*, 908, 149-54.

AMANATIDIS, S., MACKERRAS, D. & SIMPSON, J. M. 2001. Comparison of two frequency questionnaires for quantifying fruit and vegetable intake. *Public Health Nutr*, 4, 233-9.

AMIANO, P., DORRONSORO, M., DE RENOBALLES, M., RUIZ DE GORDOA, J. C. & IRIGOIEN, I. 2001. Very-long-chain omega-3 fatty acids as markers for habitual fish intake in a population consuming mainly lean fish: the EPIC cohort of Gipuzkoa. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Eur J Clin Nutr*, 55, 827-32.

ANDERSEN, H. R. & ANDERSEN, O. 1993. Effects of dietary alpha-tocopherol and beta-carotene on lipid peroxidation induced by methyl mercuric chloride in mice. *Pharmacol Toxicol*, 73, 192-201.

ANDERSEN, L. F., JOHANSSON, L. & SOLVOLL, K. 2002. Usefulness of a short food frequency questionnaire for screening of low intake of fruit and vegetable and for intake of fat. *Eur J Public Health*, 12, 208-13.

ANDERSEN, L. F., SOLVOLL, K. & DREVON, C. A. 1996. Very-long-chain n-3 fatty acids as biomarkers for intake of fish and n-3 fatty acid concentrates. *Am J Clin Nutr*, 64, 305-11.

- ANFZA/WHO/FAO 2002. Total Diet Studies (TDS). Consultation ANFZA/WHO/FAO, Brisbane, Australia.
- ANSES 2007. Note Technique AFSSA 2007/IS/123.
- ANSES en cours. Seconde étude de l'alimentation totale française. Maisons-Alfort: ANSES.
- ANSES non publiée. Note technique OCA N10-074. Les apports nutritionnels issus de l'alimentation courante dans la population française : estimations des apports usuels, prévalences d'inadéquation et risques de dépassement des limites de sécurité. Etude INCA2 2006-07. ANSES.
- ANTALIS, C. J., STEVENS, L. J., CAMPBELL, M., PAZDRO, R., ERICSON, K. & BURGESS, J. R. 2006. Omega-3 fatty acid status in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 75, 299-308.
- ANTONIJEVIC, B., MATTHYS, C., SIOEN, I., BILAU, M., VAN CAMP, J., WILLEMS, J. L. & DE HENAUW, S. 2007. Simulated impact of a fish based shift in the population n-3 fatty acids intake on exposure to dioxins and dioxin-like compounds. *Food Chem Toxicol*, 45, 2279-86.
- ANTTOLAINEN, M., VALSTA, L. M., ALFTHAN, G., KLEEMOLA, P., SALMINEN, I. & TAMMINEN, M. 1996. Effect of extreme fish consumption on dietary and plasma antioxidant levels and fatty acid composition. *Eur J Clin Nutr*, 50, 741-6.
- ARAB, L. 2003a. Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr*, 133 Suppl 3, 925S-932S.
- ARAB, L. 2003b. Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr*, 133 (Suppl 3), S925-S932.
- ARBOUINE, M. W. & WILSON, H. K. 1992. The effect of seafood consumption on the assessment of occupational exposure to arsenic by urinary arsenic speciation measurements. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*, 6, 153-60.
- ARNAUD, J. 2001. Zinc. In: TEC&DOC (ed.) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3e ed. Paris, France: Lavoisier.
- ARTERBURN, L. M., OKEN, H. A., BAILEY HALL, E., HAMERSLEY, J., KURATKO, C. N. & HOFFMAN, J. P. 2008. Algal-oil capsules and cooked salmon: nutritionally equivalent sources of docosahexaenoic acid. *J Am Diet Assoc*, 108, 1204-9.
- ASCHNER, M. & SYVERSEN, T. 2005. Methylmercury: recent advances in the understanding of its neurotoxicity. *Ther Drug Monit*, 27, 278-83.
- ASTORG, P., ARNAULT, N., CZERNICHOW, S., NOISETTE, N., GALAN, P. & HERCBERG, S. 2004. Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. *Lipids*, 39, 527-35.
- ASTORG, P., BERTRAIS, S., LAPORTE, F., ARNAULT, N., ESTAQUIO, C., GALAN, P., FAVIER, A. & HERCBERG, S. 2008a. Plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids as biomarkers of their dietary intakes: a cross-sectional study within a cohort of middle-aged French men and women. *Eur J Clin Nutr*, 62, 1155-61.
- ASTORG, P., COUTHOUIS, A., BERTRAIS, S., ARNAULT, N., MENETON, P., GUESNET, P., ALESSANDRI, J. M., GALAN, P. & HERCBERG, S. 2008b. Association of fish and long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid intakes with the occurrence of depressive episodes in middle-aged French men and women. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 78, 171-82.
- ATSDR 2007. Toxicological profile for Arsenic. Atlanta, Georgia, USA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- AZAÏS-BRAESCO, V., BRUCKERT, E., DURIER, P., LECERF, J. M., PASCAL, G., HERCBERG, S., BOURGEOIS, C. & LÉGER, C. 2001. Vitamine E. In: TEC&DOC (ed.) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3e ed. Paris, France: Lavoisier.
- AZAÏS-BRAESCO, V. & GROLIER, P. 2001. Vitamine A. In: TEC&DOC (ed.) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3e ed. Paris, France: Lavoisier.
- BAEYENS, W., GAO, Y., DE GALAN, S., BILAU, M., VAN LAREBEKE, N. & LEERMAKERS, M. 2008. Dietary exposure to total and toxic arsenic in Belgium: Importance of arsenic speciation in North Sea fish. *Mol Nutr Food Res*.
- BARBERGER-GATEAU, P., JUTAND, M. A., LETENNEUR, L., LARRIEU, S., TAVERNIER, B. & BERR, C. 2005. Correlates of regular fish consumption in French elderly community dwellers: data from the Three-City study. *Eur J Clin Nutr*, 59, 817-25.
- BARCELO-COBLIJN, G., MURPHY, E. J., OTHMAN, R., MOGHADASIAN, M. H., KASHOUR, T. & FRIEL, J. K. 2008. Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell n-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of n-3 fatty acid. *Am J Clin Nutr*, 88, 801-9.
- BEARD, J. L., BRIGHAM, D. E., KELLEY, S. K. & GREEN, M. H. 1998. Plasma thyroid hormone kinetics are altered in iron-deficient rats. *J Nutr*, 128, 1401-8.
- BECKER, W., DARNERUD, P. O. & PETERSSON-GRAWÉ, K. 2007. Risks and benefits of fish consumption - A Risk-Benefit Analysis Based on the Occurrence of Dioxin/PCB, Methyl Mercury, n-3 Fatty Acids and Vitamin D in Fish. National Food Administration, Sweden.

- BEMRAH, N., SIROT, V., LEBLANC, J. C. & VOLATIER, J. L. 2009. Fish and seafood consumption and omega 3 intake in French coastal populations: CALIPSO survey. *Public Health Nutr*, 12, 599-608.
- BERRY, C., MONTGOMERY, C., SATTAR, N., NORRIE, J. & WEAVER, L. T. 2001. Fatty acid status of women of reproductive age. *Eur J Clin Nutr*, 55, 518-24.
- BHOURI, A. M., HARZALLAAH, H. J., DHIBI, M., BOUHLEL, I., HAMMAMI, M. & CHAOUCH, A. 2010. Nutritional fatty acid quality of raw and cooked farmed and wild Sea Bream (*Sparus aurata*). *J Agric Food Chem*, 58, 507-12.
- BJERVE, K. S., BRUBAKK, A. M., FOUIGNER, K. J., JOHNSEN, H., MIDTHJELL, K. & VIK, T. 1993. Omega-3 fatty acids: essential fatty acids with important biological effects, and serum phospholipid fatty acids as markers of dietary omega 3-fatty acid intake. *Am J Clin Nutr*, 57, 801S-805S; discussion 805S-806.
- BJORNBERG, K. A., VAHTER, M., GRAWE, K. P. & BERGLUND, M. 2005. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci Total Environ*, 341, 45-52.
- BLACK, A. E. 2000. Critical evaluation of energy intake using the Goldberg cut-off for energy intake:basal metabolic rate. A practical guide to its calculation, use and limitations. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 24, 1119-30.
- BLOCK, R. C., HARRIS, W. S., REID, K. J., SANDS, S. A. & SPERTUS, J. A. 2008. EPA and DHA in blood cell membranes from acute coronary syndrome patients and controls. *Atherosclerosis*, 197, 821-8.
- BONAA, K. H., BJERVE, K. S. & NORDOY, A. 1992. Habitual fish consumption, plasma phospholipid fatty acids, and serum lipids: the Tromso study. *Am J Clin Nutr*, 55, 1126-34.
- BORAK, J. & HOSGOOD, H. D. 2007. Seafood arsenic: implications for human risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol*, 47, 204-12.
- BOURRE, J. M. & PAQUOTTE, P. M. 2008. Contributions (in 2005) of marine and fresh water products (finfish and shellfish, seafood, wild and farmed) to the French dietary intakes of vitamins D and B12, selenium, iodine and docosahexaenoic acid: impact on public health. *Int J Food Sci Nutr*, 59, 491-501.
- BRENNER, H. & BLETTNER, M. 1997. Controlling for continuous confounders in epidemiologic research. *Epidemiology*, 8, 429-34.
- BROWN, A. J., PANG, E. & ROBERTS, D. C. 1991a. Erythrocyte eicosapentaenoic acid versus docosahexaenoic acid as a marker for fish and fish oil consumption. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 44, 103-6.
- BROWN, A. J., PANG, E. & ROBERTS, D. C. 1991b. Persistent changes in the fatty acid composition of erythrocyte membranes after moderate intake of n-3 polyunsaturated fatty acids: study design implications. *Am J Clin Nutr*, 54, 668-73.
- BROWN, K. M., MORRICE, P. C. & DUTHIE, G. G. 1998. Erythrocyte membrane fatty acid composition of smokers and non-smokers: effects of vitamin E supplementation. *Eur J Clin Nutr*, 52, 145-50.
- BUCHET, J. P., PAUWELS, J. & LAUWERYS, R. 1994. Assessment of exposure to inorganic arsenic following ingestion of marine organisms by volunteers. *Environ Res*, 66, 44-51.
- BUDTZ-JORGENSEN, E., DEBES, F., WEIHE, P. & GRANDJEAN, P. 2010. Structural equation models for meta-analysis in environmental risk assessment. *Environmetrics*, 21, 510-527.
- BUDTZ-JORGENSEN, E., GRANDJEAN, P., JORGENSEN, P. J., WEIHE, P. & KEIDING, N. 2004. Association between mercury concentrations in blood and hair in methylmercury-exposed subjects at different ages. *Environ Res*, 95, 385-93.
- BUDTZ-JORGENSEN, E., GRANDJEAN, P., KEIDING, N., WHITE, R. F. & WEIHE, P. 2000. Benchmark dose calculations of methylmercury-associated neurobehavioural deficits. *Toxicol Lett*, 112-113, 193-9.
- BUDTZ-JORGENSEN, E., GRANDJEAN, P. & WEIHE, P. 2007. Separation of risks and benefits of seafood intake. *Environ Health Perspect*, 115, 323-7.
- BUDTZ-JORGENSEN, E., KEIDING, N. & GRANDJEAN, P. 1999. Benchmark modeling of the Faroese methylmercury data. Final Report to USEPA.: US-EPA.
- BUDTZ-JORGENSEN, E., KEIDING, N. & GRANDJEAN, P. 2001. Benchmark dose calculation from epidemiological data. *Biometrics*, 57, 698-706.
- BURDGE, G. C. & WOOTTON, S. A. 2002. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br J Nutr*, 88, 411-20.
- BUZINA, R., STEGNAR, P., BUZINA-SUBOTICANEC, K., HORVAT, M., PETRIC, I. & FARLEY, T. M. 1995. Dietary mercury intake and human exposure in an Adriatic population. *Sci Total Environ*, 170, 199-208.
- CACERES, D. D., PINO, P., MONTESINOS, N., ATALAH, E., AMIGO, H. & LOOMIS, D. 2005. Exposure to inorganic arsenic in drinking water and total urinary arsenic concentration in a Chilean population. *Environ Res*, 98, 151-9.
- CADE, J., THOMPSON, R., BURLEY, V. & WARM, D. 2002. Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutr*, 5, 567-87.

- CADE, J. E., BURLEY, V. J., WARM, D. L., THOMPSON, R. L. & MARGETTS, B. M. 2004. Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation. *Nutr Res Rev*, 17, 5-22.
- CALDERON, R. L., HUDGENS, E., LE, X. C., SCHREINEMACHERS, D. & THOMAS, D. J. 1999. Excretion of arsenic in urine as a function of exposure to arsenic in drinking water. *Environ Health Perspect*, 107, 663-7.
- CAO, J., SCHWICHTENBERG, K. A., HANSON, N. Q. & TSAI, M. Y. 2006. Incorporation and clearance of omega-3 fatty acids in erythrocyte membranes and plasma phospholipids. *Clin Chem*, 52, 2265-72.
- CARNEY, R. M., FREEDLAND, K. E., RUBIN, E. H., RICH, M. W., STEINMEYER, B. C. & HARRIS, W. S. 2009. Omega-3 augmentation of sertraline in treatment of depression in patients with coronary heart disease: a randomized controlled trial. *Jama*, 302, 1651-7.
- CARRIERE, I., DELCOURT, C., LACROUX, A. & GERBER, M. 2007. Nutrient intake in an elderly population in southern France (POLANUT): deficiency in some vitamins, minerals and omega-3 PUFA. *Int J Vitam Nutr Res*, 77, 57-65.
- CARRIÈRE, I., DELCOURT, C., LACROUX, A., GERBER, M. & AND THE POLANUT STUDY GROUP 2007. Nutrient Intake in an Elderly Population in Southern France (POLANUT): Deficiency in some Vitamins, Minerals and ω -3 PUFA. *Int J Vitam Nutr Res*, 77, 57-65.
- CARRINGTON, C. D., MONTWILL, B. & BOLGER, P. M. 2004. An intervention analysis for the reduction of exposure to methylmercury from the consumption of seafood by women of child-bearing age. *Regul Toxicol Pharmacol*, 40, 272-80.
- CENTIENO, G., RODRIGEZ-GONZALEZ, P., GONZALEZ, E. B., GARCIA ALONZO, J. I. & SANZ-MENDEL, A. 2004. Simultaneous determination of mono-, di- and tributyltin in environmental samples using isotope dilution gas chromatography mass spectrometry. *J. Mass. Spectrom.*, 39, 485-94.
- CETIN, I. & KOLETZKO, B. 2008. Long-chain omega-3 fatty acid supply in pregnancy and lactation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 11, 297-302.
- CHAPMAN, L. & CHAN, H. M. 2000. The influence of nutrition on methyl mercury intoxication. *Environ Health Perspect*, 108 Suppl 1, 29-56.
- CHEN, C., ARJOMANDI, M., BALMES, J., TAGER, I. & HOLLAND, N. 2007. Effects of chronic and acute ozone exposure on lipid peroxidation and antioxidant capacity in healthy young adults. *Environ Health Perspect*, 115, 1732-7.
- CHEN, C. J., CHEN, C. W., WU, M. M. & KUO, T. L. 1992. Cancer potential in liver, lung, bladder and kidney due to ingested inorganic arsenic in drinking water. *Br J Cancer*, 66, 888-92.
- CHOI, A. L., BUDTZ-JORGENSEN, E., JORGENSEN, P. J., STEUERWALD, U., DEBES, F., WEIHE, P. & GRANDJEAN, P. 2008. Selenium as a potential protective factor against mercury developmental neurotoxicity. *Environ Res*, 107, 45-52.
- CIRILLO, T., VISCARDI, V., FASANO, E., FARINA, A. & AMODIO-COCCHIERI, R. 2009. Polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, and polycyclic aromatic hydrocarbons in wild, farmed, and frozen marine seafood marketed in Campania, Italy. *J Food Prot*, 72, 1677-85.
- COHEN, B. E., GARG, S. K., ALI, S., HARRIS, W. S. & WHOOLEY, M. A. 2008. Red blood cell docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid concentrations are positively associated with socioeconomic status in patients with established coronary artery disease: data from the Heart and Soul Study. *J Nutr*, 138, 1135-40.
- COHEN, J. T., BELLINGER, D. C., CONNOR, W. E., KRIS-ETHERTON, P. M., LAWRENCE, R. S., SAVITZ, D. A., SHAYWITZ, B. A., TEUTSCH, S. M. & GRAY, G. M. 2005. A quantitative risk-benefit analysis of changes in population fish consumption. *Am J Prev Med*, 29, 325-34.
- COMMISSION EUROPÉENNE 2004. Scientific Cooperation (SCOOP) reports on tasks 3.2.11. Assessment of dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of EU Members States.
- CONSODURABLE. 2010. *Le calendrier des fruits et légumes de saison* [Online]. Available: http://www.consodurable.org/files/fichiers/21_calendrier_fruits_et_legumes.doc [Accessed].
- COUDRAY, C. & HERCBERG, S. 2001. Fer. In: TEC&DOC (ed.) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3e ed. Paris, France: Lavoisier.
- CREPET, A., TRESSOU, J., VERGER, P. & LEBLANC, J. 2005. Management options to reduce exposure to methyl mercury through the consumption of fish and fishery products by the French population. *Regul Toxicol Pharmacol*, 42, 179-89.
- CUVIN-ARALAR, M. L. & FURNESS, R. W. 1991. Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicol Environ Saf*, 21, 348-64.
- DALLONGEVILLE, J., YARNELL, J., DUCIMETIERE, P., ARVEILER, D., FERRIERES, J., MONTAYE, M., LUC, G., EVANS, A., BINGHAM, A., HASS, B., RUIDAVETS, J. B. & AMOUYEL, P. 2003. Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation*, 108, 820-5.
- DAS, U. N. 2000. Beneficial effect(s) of n-3 fatty acids in cardiovascular diseases: but, why and how? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 63, 351-62.

- DAVEY, G. K., SPENCER, E. A., APPLEBY, P. N., ALLEN, N. E., KNOX, K. H. & KEY, T. J. 2003. EPIC-Oxford: lifestyle characteristics and nutrient intakes in a cohort of 33 883 meat-eaters and 31 546 non meat-eaters in the UK. *Public Health Nutr*, 6, 259-69.
- DAVIGLUS, M. L., STAMLER, J., ORENCIA, A. J., DYER, A. R., LIU, K., GREENLAND, P., WALSH, M. K., MORRIS, D. & SHEKELLE, R. B. 1997. Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. *N Engl J Med*, 336, 1046-53.
- DE GIETER, M., LEERMAKERS, M., VAN RYSSSEN, R., NOYEN, J., GOEYENS, L. & BAEYENS, W. 2002. Total and toxic arsenic levels in north sea fish. *Arch Environ Contam Toxicol*, 43, 406-17.
- DEBRY, G. 2004. *Dietary proteins and atherosclerosis*.
- DECLOITRE, F. 1992. La part des différents aliments dans l'exposition au plomb, au cadmium et au mercure en France. *Cah Nutr Diet*, 33, 167-75.
- DEMONTY, I., DESHAIES, Y., LAMARCHE, B. & JACQUES, H. 2003. Cod protein lowers the hepatic triglyceride secretion rate in rats. *J Nutr*, 133, 1398-402.
- DERUMEAU, H., VALEIX, P., CASTETBON, K., BENSIMON, M., BOUTRON-ROUAULT, M. C., ARNAUD, J. & HERCBERG, S. 2003. Association of selenium with thyroid volume and echotexture in 35- to 60-year-old French adults. *Eur J Endocrinol*, 148, 309-15.
- DESMETTRE, T. & ROULAND, J. F. 2005. Hypothèses sur le rôle des facteurs nutritionnels au cours des hypertensions oculaires et du glaucome. *J Fr Ophtalmol*, 28, 312-6.
- DESQUILBET, L. & MARIOTTI, F. 2010. Tutorial in Biostatistics: Dose-Response Analyses Using Restricted Cubic Spline Functions in Public Health Research. *Stat Med*, 29.
- DGCCRF 2002. Les entreprises du petit commerce en France entre 1993 et 2003. Paris, France: DGCCRF.
- DGS 1992. La Diagonale des métaux : Etude sur la teneur en métaux dans l'alimentation. Paris, France: DGS.
- DOMINGO, J. L., BOCIO, A., FALCO, G. & LLOBET, J. M. 2007a. Benefits and risks of fish consumption Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology*, 230, 219-26.
- DOMINGO, J. L., BOCIO, A., MARTI-CID, R. & LLOBET, J. M. 2007b. Benefits and risks of fish consumption Part II. RIBEPEIX, a computer program to optimize the balance between the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology*, 230, 227-33.
- DREWNOWSKI, A. 2007. What's next for nutrition labeling and health claims? *Nutrition Today*, 42, 206-14.
- DUBUISSON, C., LIORET, S., TOUVIER, M., DUFOUR, A., CALAMASSI-TRAN, G., VOLATIER, J. L. & LAFAY, L. 2010. Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: results from the INCA surveys. *Br J Nutr*, 103, 1035-48.
- DUCHEN, M. R. 2000. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *J Physiol*, 529 Pt 1, 57-68.
- DUCROS, V. 2001. sélénium. In: TEC&DOC (ed.) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3e ed. Paris, France: Lavoisier.
- DUCROS, V., FAURE, P., FERRY, M., COUZY, F., BIAJOUX, I. & FAVIER, A. 1997. The sizes of the exchangeable pools of selenium in elderly women and their relation to institutionalization. *Br J Nutr*, 78, 379-96.
- DUFOUR, A. & VOLATIER, J. L. 1998. Rapport CREDOC - Enquête sur la consommation alimentaire dans le Nord Cotentin pour la Cogema. Paris, France: CREDOC.
- EFSA 2004a. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to mercury and methylmercury in food (Request N° EFSA-Q-2003-030).
- EFSA 2004b. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission to assess the health risks to consumers associated with exposure to organotins in foodstuffs (Question N° EFSA-Q-2003-110). *The EFSA Journal*.
- EFSA 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the Commission related to the presence of NDL-PCB in feed and food (Question N° EFSA-Q-2003-114). Parma, Italy: EFSA.
- EFSA. Year. EFSA Colloquium 6: Risk-benefit analysis of foods: methods and approaches. In: EFSA Colloquium 6: Risk-benefit analysis of foods: methods and approaches, 13-14 July 2006 2006a Tabiano (province of Parma), Italy.
- EFSA 2006b. *Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals*.
- EFSA 2008. Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (Question No EFSA-Q-2006-121). Parma, Italy: EFSA.
- EFSA 2009a. Scientific Opinion on Arsenic in Food. Parma, Italy: EFSA.
- EFSA 2009b. Scientific Opinion. Cadmium in food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question No EFSA-Q-2007-138). Parma, Italy: EFSA.
- EFSA/WHO. Year. EFSA Meeting summary report. In: EFSA/WHO International conference with support of ILSI Europe on risk assessment of compounds that are both genotoxic and carcinogenic, 16-18 Novembre 2005 2005 Brussels, Belgium.

- ELIZONDO, A., ARAYA, J., RODRIGO, R., PONIACHIK, J., CSENDES, A., MALUENDA, F., DIAZ, J. C., SIGNORINI, C., SGHERRI, C., COMPORTI, M. & VIDELA, L. A. 2007. Polyunsaturated fatty acid pattern in liver and erythrocyte phospholipids from obese patients. *Obesity (Silver Spring)*, 15, 24-31.
- ENGESSET, D., ANDERSEN, V., HJARTAKER, A. & LUND, E. 2007. Consumption of fish and risk of colon cancer in the Norwegian Women and Cancer (NOWAC) study. *Br J Nutr*, 98, 576-82.
- EUROPEAN COMMISSION 1998. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. European Commission.
- FAO/WHO 2010. Joint FAO/WHO Expert Consultation of the risks and benefits on fish consumption - Executive summary. Rome, Italy: FAO/WHO.
- FAO/WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION 2005. *Procedural Manual*, Rome, Italy.
- FDA/CFSAN, U. 2009. Draft summary of published research. Summary of published research on the beneficial effects of fish consumption and omega-3 fatty acids for certain neurodevelopmental and cardiovascular endpoints. US FDA.
- FLACHS, P., HORAKOVA, O., BRAUNER, P., ROSSMEISL, M., PECINA, P., FRANSSEN-VAN HAL, N., RUZICKOVA, J., SPONAROVA, J., DRAHOTA, Z., VLCEK, C., KEIJER, J., HOUSTEK, J. & KOPECKY, J. 2005. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia*, 48, 2365-75.
- FOK, T. F., LAM, H. S., NG, P. C., YIP, A. S., SIN, N. C., CHAN, I. H., GU, G. J., SO, H. K., WONG, E. M. & LAM, C. W. 2007. Fetal methylmercury exposure as measured by cord blood mercury concentrations in a mother-infant cohort in Hong Kong. *Environ Int*, 33, 84-92.
- FORAN, J. A., GOOD, D. H., CARPENTER, D. O., HAMILTON, M. C., KNUTH, B. A. & SCHWAGER, S. J. 2005. Quantitative analysis of the benefits and risks of consuming farmed and wild salmon. *J Nutr*, 135, 2639-43.
- FSA 2005. Survey of arsenic in fish and shellfish. FSA.
- GAGNON, F., TREMBLAY, T., ROUETTE, J. & CARTIER, J. F. 2004. Chemical risks associated with consumption of shellfish harvested on the north shore of the St. Lawrence River's lower estuary. *Environ Health Perspect*, 112, 883-8.
- GALAN, P., RENAULT, N., AISSA, M., ADAD, H. A., RAHIM, B., POTIER DE COURCY, G. & HERCBERG, S. 2003. Relationship between soup consumption, folate, beta-carotene, and vitamin C status in a French adult population. *Int J Vitam Nutr Res*, 73, 315-21.
- GALLAGHER, C. M., KOVACH, J. S. & MELIKER, J. R. 2008. Urinary cadmium and osteoporosis in U.S. Women ≥ 50 years of age: NHANES 1988-1994 and 1999-2004. *Environ Health Perspect*, 116, 1338-43.
- GARABEDIAN, M. 2001. Vitamine D. In: TEC&DOC (ed.) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3e ed. Paris, France: Lavoisier.
- GERBER, M. J., SCALI, J. D., MICHAUD, A., DURAND, M. D., ASTRE, C. M., DALLONGEVILLE, J. & ROMON, M. M. 2000. Profiles of a healthful diet and its relationship to biomarkers in a population sample from Mediterranean southern France. *J Am Diet Assoc*, 100, 1164-71.
- GINSBERG, G. L. & TOAL, B. F. 2009. Quantitative approach for incorporating methylmercury risks and omega-3 fatty acid benefits in developing species-specific fish consumption advice. *Environ Health Perspect*, 117, 267-75.
- GOLD, M. R., STEVENSON, D. & FRYBACK, D. G. 2002. HALYS and QALYS and DALYS, Oh My: similarities and differences in summary measures of population Health. *Annu Rev Public Health*, 23, 115-34.
- GOLDBERG, G. R., BLACK, A. E., JEBB, S. A., COLE, T. J., MURGATROYD, P. R., COWARD, W. A. & PRENTICE, A. M. 1991. Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *Eur J Clin Nutr*, 45, 569-81.
- GONCHAROV, A., HAASE, R. F., SANTIAGO-RIVERA, A., MORSE, G., MCCAFFREY, R. J., REJ, R. & CARPENTER, D. O. 2008. High serum PCBs are associated with elevation of serum lipids and cardiovascular disease in a Native American population. *Environ Res*, 106, 226-39.
- GOODSTINE, S. L., ZHENG, T., HOLFORD, T. R., WARD, B. A., CARTER, D., OWENS, P. H. & MAYNE, S. T. 2003. Dietary (n-3)/(n-6) fatty acid ratio: possible relationship to premenopausal but not postmenopausal breast cancer risk in U.S. women. *J Nutr*, 133, 1409-14.
- GRANDJEAN, P. & BUDTZ-JORGENSEN, E. 2007. Total imprecision of exposure biomarkers: implications for calculating exposure limits. *Am J Ind Med*, 50, 712-9.
- GRANDJEAN, P., BUDTZ-JORGENSEN, E., WHITE, R. F., JORGENSEN, P. J., WEIHE, P., DEBES, F. & KEIDING, N. 1999. Methylmercury exposure biomarkers as indicators of neurotoxicity in children aged 7 years. *Am J Epidemiol*, 150, 301-5.

- GRANDJEAN, P., WEIHE, P., BURSE, V. W., NEEDHAM, L. L., STORR-HANSEN, E., HEINZOW, B., DEBES, F., MURATA, K., SIMONSEN, H., ELLEFSEN, P., BUDTZ-JORGENSEN, E., KEIDING, N. & WHITE, R. F. 2001. Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxins. *Neurotoxicol Teratol*, 23, 305-17.
- GREENLAND, S. 1995. Dose-response and trend analysis in epidemiology: alternatives to categorical analysis. *Epidemiology*, 6, 356-65.
- GUALLAR, E., SANZ-GALLARDO, M. I., VAN'T VEER, P., BODE, P., ARO, A., GOMEZ-ARACENA, J., KARK, J. D., RIEMERSMA, R. A., MARTIN-MORENO, J. M. & KOK, F. J. 2002. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 347, 1747-54.
- GUÉANT, J. L., NAMOUR, F., AIMONE-GASTIN, I. & NICOLAS, J. P. 2001. Vitamine B₁₂. In: TEC&DOC (ed.) *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3e ed. Paris, France: Lavoisier.
- GUERIN, T., SIROT, V., VOLATIER, J. L. & LEBLANC, J. C. 2007. Organotin levels in seafood and its implications for health risk in high-seafood consumers. *Sci Total Environ*, 388, 66-77.
- GUEVEL, M. R., SIROT, V., VOLATIER, J. L. & LEBLANC, J. C. 2008. A risk-benefit analysis of French high fish consumption: a QALY approach. *Risk Anal*, 28, 37-48.
- HALLGREN, C. G., HALLMANS, G., JANSSON, J. H., MARKLUND, S. L., HUHTASAARI, F., SCHUTZ, A., STROMBERG, U., VESSBY, B. & SKERFVING, S. 2001. Markers of high fish intake are associated with decreased risk of a first myocardial infarction. *Br J Nutr*, 86, 397-404.
- HALLIWELL, B. & CROSS, C. E. 1994. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect*, 102 Suppl 10, 5-12.
- HAMILTON, M. C., HITES, R. A., SCHWAGER, S. J., FORAN, J. A., KNUTH, B. A. & CARPENTER, D. O. 2005. Lipid composition and contaminants in farmed and wild salmon. *Environ Sci Technol*, 39, 8622-9.
- HAMRE, K., LIE, O. & SANDNES, K. 2003. Seasonal development of nutrient composition, lipid oxidation and colour of fillets from Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus* L.). *Food Chemistry*, 82, 441-6.
- HARADA, M. 1978. Congenital Minamata disease: intrauterine methylmercury poisoning. *Teratology*, 18, 285-8.
- HARADA, M., AKAGI, H., TSUDA, T., KIZAKI, T. & OHNO, H. 1999. Methylmercury level in umbilical cords from patients with congenital Minamata disease. *Sci Total Environ*, 234, 59-62.
- HARRIS, W. S. 1997. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr*, 65, 1645S-1654S.
- HARRIS, W. S. 2007. Expert opinion: omega-3 fatty acids and bleeding-cause for concern? *Am J Cardiol*, 99, 44C-46C.
- HARRIS, W. S. 2008. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease. *Am J Clin Nutr*, 87, S1997-S2002.
- HARRIS, W. S., POTTALA, J. V., SANDS, S. A. & JONES, P. G. 2007. Comparison of the effects of fish and fish-oil capsules on the n 3 fatty acid content of blood cells and plasma phospholipids. *Am J Clin Nutr*, 86, 1621-5.
- HARRIS, W. S. & VON SCHACKY, C. 2004. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? *Prev Med*, 39, 212-20.
- HE, K., SONG, Y., DAVIGLUS, M. L., LIU, K., VAN HORN, L., DYER, A. R., GOLDBOURT, U. & GREENLAND, P. 2004. Fish consumption and incidence of stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Stroke*, 35, 1538-42.
- HEINRICH-RAMM, R., MINDT-PRUFERT, S. & SZADKOWSKI, D. 2001. Arsenic species excretion in a group of persons in northern Germany--contribution to the evaluation of reference values. *Int J Hyg Environ Health*, 203, 475-7.
- HEINRICH-RAMM, R., MINDT-PRUFERT, S. & SZADKOWSKI, D. 2002. Arsenic species excretion after controlled seafood consumption. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 778, 263-73.
- HELYAR, S. G., PATEL, B., HEADINGTON, K., EL ASSAL, M., CHATTERJEE, P. K., PACHER, P. & MABLEY, J. G. 2009. PCB-induced endothelial cell dysfunction: role of poly(ADP-ribose) polymerase. *Biochem Pharmacol*, 78, 959-65.
- HENNIG, B., MEERARANI, P., SLIM, R., TOBOREK, M., DAUGHERTY, A., SILVERSTONE, A. E. & ROBERTSON, L. W. 2002. Proinflammatory properties of coplanar PCBs: in vitro and in vivo evidence. *Toxicol Appl Pharmacol*, 181, 174-83.
- HERCBERG, S. 2003. National Nutrition and Health Program. *Arch Pediatr*, 10 Suppl 1, 54s-56s.
- HERNAN, M. A., HERNANDEZ-DIAZ, S., WERLER, M. M. & MITCHELL, A. A. 2002. Causal knowledge as a prerequisite for confounding evaluation: an application to birth defects epidemiology. *Am J Epidemiol*, 155, 176-84.
- HIBBELN, J. R. 1998. Fish consumption and major depression. *Lancet*, 351, 1213.

- HIBBELN, J. R., DAVIS, J. M., STEER, C., EMMETT, P., ROGERS, I., WILLIAMS, C. & GOLDING, J. 2007. Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *Lancet*, 369, 578-85.
- HIBBELN, J. R., MAKINO, K. K., MARTIN, C. E., DICKERSON, F., BORONOW, J. & FENTON, W. S. 2003. Smoking, gender, and dietary influences on erythrocyte essential fatty acid composition among patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Biol Psychiatry*, 53, 431-41.
- HIBBELN, J. R. & SALEM, N., JR. 1995. Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: when cholesterol does not satisfy. *Am J Clin Nutr*, 62, 1-9.
- HIROSE, K., TAKEZAKI, T., HAMAJIMA, N., MIURA, S. & TAJIMA, K. 2003. Dietary factors protective against breast cancer in Japanese premenopausal and postmenopausal women. *Int J Cancer*, 107, 276-82.
- HITES, R. A., FORAN, J. A., CARPENTER, D. O., HAMILTON, M. C., KNUTH, B. A. & SCHWAGER, S. J. 2004. Global assessment of organic contaminants in farmed salmon. *Science*, 303, 226-9.
- HJARTAKER, A., LUND, E. & BJERVE, K. S. 1997. Serum phospholipid fatty acid composition and habitual intake of marine foods registered by a semi-quantitative food frequency questionnaire. *Eur J Clin Nutr*, 51, 736-42.
- HOWE, P., MEYER, B., RECORD, S. & BAGHURST, K. 2006. Dietary intake of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids: contribution of meat sources. *Nutrition*, 22, 47-53.
- HSUEH, Y. M., HSU, M. K., CHIOU, H. Y., YANG, M. H., HUANG, C. C. & CHEN, C. J. 2002. Urinary arsenic speciation in subjects with or without restriction from seafood dietary intake. *Toxicol Lett*, 133, 83-91.
- HU, F. B., BRONNER, L., WILLETT, W. C., STAMPFER, M. J., REXRODE, K. M., ALBERT, C. M., HUNTER, D. & MANSON, J. E. 2002. Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *Jama*, 287, 1815-21.
- HUANG, T. L., ZANDI, P. P., TUCKER, K. L., FITZPATRICK, A. L., KULLER, L. H., FRIED, L. P., BURKE, G. L. & CARLSON, M. C. 2005. Benefits of fatty fish on dementia risk are stronger for those without APOE epsilon4. *Neurology*, 65, 1409-14.
- HUBSKYI IU, I., ERSTENIUK, H. M., BRIUZHINA, T. S. & ZADORINA, O. V. 2003. [Fatty acid composition of lipids in erythrocytes and blood plasma in cadmium intoxication and its correction with unitiol]. *Ukr Biokhim Zh*, 75, 103-5.
- HUGHES, M. C., WILLIAMS, G. M., FORTANIER, A. & GREEN, A. C. 2009. Food intake, dietary patterns, and actinic keratoses of the skin: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr*, 89, 1246-55.
- IARC 1994. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 58. Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. In: WHO (ed.). Lyon, France: WHO.
- INABA, T., KOBAYASHI, E., SUWAZONO, Y., UETANI, M., OISHI, M., NAKAGAWA, H. & NOGAWA, K. 2005. Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-itai disease. *Toxicol Lett*, 159, 192-201.
- INNIS, S. M. & FRIESEN, R. W. 2008. Essential n-3 fatty acids in pregnant women and early visual acuity maturation in term infants. *Am J Clin Nutr*, 87, 548-57.
- INRA/WHO 2004. Total Diet Studies (TDS). Consultation INRA/WHO, Paris, France.
- INRS 2007. BIOTOX - Guide toxicologique pour les médecins du travail. INRS.
- INSUG, O., DATAR, S., KOCH, C. J., SHAPIRO, I. M. & SHENKER, B. J. 1997. Mercuric compounds inhibit human monocyte function by inducing apoptosis: evidence for formation of reactive oxygen species, development of mitochondrial membrane permeability transition and loss of reductive reserve. *Toxicology*, 124, 211-24.
- INVS & AFSSA 2009. Etude d'imprégnation par les dioxines des populations vivant à proximité d'usines d'incinération d'ordures ménagères. Rapport d'étude.
- IPCS 2004. IPCS Risk assessment terminology. Geneva, Switzerland: WHO.
- ISSFAL. 2007. PUFA Recommendations - Global recommendations [Online]. Available: http://www.issfal.org.uk/index.php?option=com_content&task=view&id=12&Itemid=31 [Accessed 24 February 2009].
- ITOMURA, M., FUJIOKA, S., HAMAZAKI, K., KOBAYASHI, K., NAGASAWA, T., SAWAZAKI, S., KIRIHARA, Y. & HAMAZAKI, T. 2008. Factors influencing EPA+DHA levels in red blood cells in Japan. *In Vivo*, 22, 131-5.
- JARUP, L., HELLSTROM, L., ALFVEN, T., CARLSSON, M. D., GRUBB, A., PERSSON, B., PETTERSSON, C., SPANG, G., SCHUTZ, A. & ELINDER, C. G. 2000. Low level exposure to cadmium and early kidney damage: the OSCAR study. *Occup Environ Med*, 57, 668-72.
- JAZAYERI, S., TEHRANI-DOOST, M., KESHAVARZ, S. A., HOSSEINI, M., DJAZAYERI, A., AMINI, H., JALALI, M. & PEET, M. 2008. Comparison of therapeutic effects of omega-3 fatty acid

- eicosapentaenoic acid and fluoxetine, separately and in combination, in major depressive disorder. *Aust N Z J Psychiatry*, 42, 192-8.
- JECFA 2004. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. 61st Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, Switzerland: WHO.
- JECFA 2010a. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusions. Seventy-second meeting. Rome, 16–25 February 2010. Issued 16th March 2010. Rome, Italy: OMS.
- JECFA 2010b. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusions. Seventy-third meeting. Geneva, 8–17 June 2010. Issued 24th June 2010. Geneva, Switzerland: OMS.
- JEMAI, H., MESSAOUDI, I., CHAOUCH, A. & KERKENI, A. 2007. Protective effect of zinc supplementation on blood antioxidant defense system in rats exposed to cadmium. *J Trace Elem Med Biol*, 21, 269-73.
- JOACHIM, G. 1997. Supply and demand: a framework for explaining variability in dietary intake and its impact on data. *Nutr Health*, 11, 289-99.
- JOHNSON, E. J. 2010. Age-related macular degeneration and antioxidant vitamins: recent findings. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 13, 28-33.
- KALAHASTHI, R. B., RAJMOHAN, H., RAJAN, B. & KUMAR, M. K. 2007. Urinary N-acetyl-beta -D-glucosaminidase and its isoenzymes A & B in workers exposed to cadmium at cadmium plating. *J Occup Med Toxicol*, 2, 5.
- KATAN, M. B., DESLYPERE, J. P., VAN BIRGELEN, A. P., PENDERS, M. & ZEGWAARD, M. 1997. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res*, 38, 2012-22.
- KERSHAW, T. G., CLARKSON, T. W. & DHABIR, P. H. 1980. The relationship between blood levels and dose of methylmercury in man. *Arch Environ Health*, 35, 28-36.
- KHAN, M. A., PARRISH, C. C. & SHAHIDI, F. 2006. Effects of environmental characteristics of aquaculture sites on the quality of cultivated Newfoundland blue mussels (*Mytilus edulis*). *J Agric Food Chem*, 54, 2236-41.
- KIM, D. J. & HOLOWATY, E. J. 2003. Brief, validated survey instruments for the measurement of fruit and vegetable intakes in adults: a review. *Prev Med*, 36, 440-7.
- KINNUCAN, H. W., KXIAO, H., HSIA, C. J. & JACKSON, J. D. 1997. Effects of health information and generic advertising on U.S. meat demand. *Am J Agr Econ*, 79, 13-23.
- KINSELLA, J. E., LOKESH, B. & STONE, R. A. 1990. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. *Am J Clin Nutr*, 52, 1-28.
- KISHIMOTO, T., OGURI, T., ABE, M., KAJITANI, H. & TADA, M. 1995. Inhibitory effect of methylmercury on migration and tube formation by cultured human vascular endothelial cells. *Arch Toxicol*, 69, 357-61.
- KODAS, E., GALINEAU, L., BODARD, S., VANCASSEL, S., GUILLOTEAU, D., BESNARD, J. C. & CHALON, S. 2004. Serotonergic neurotransmission is affected by n-3 polyunsaturated fatty acids in the rat. *J Neurochem*, 89, 695-702.
- KOLETZKO, B., FAU - LIEN, E., LIEN E FAU - AGOSTONI, C., AGOSTONI C FAU - BOHLES, H., BOHLES H FAU - CAMPOY, C., CAMPOY C FAU - CETIN, I., CETIN I FAU - DECSI, T., DECSI T FAU - DUDENHAUSEN, J. W., DUDENHAUSEN JW FAU - DUPONT, C., DUPONT C FAU - FORSYTH, S., FORSYTH S FAU - HOESLI, I., HOESLI I FAU - HOLZGREVE, W., HOLZGREVE W FAU - LAPILLONNE, A., LAPILLONNE A FAU - PUTET, G., PUTET G FAU - SECHER, N. J., SECHER NJ FAU - SYMONDS, M., SYMONDS M FAU - SZAJEWSKA, H., SZAJEWSKA H FAU - WILLATTS, P., WILLATTS P FAU - UAUY, R. & UAUY, R. 2008. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *J Perinat Med*, 36, 5-14.
- KRAUSS-ETSCHMANN, S., SHADID, R., CAMPOY, C., HOSTER, E., DEMMELMAIR, H., JIMENEZ, M., GIL, A., RIVERO, M., VESZPREMI, B., DECSI, T. & KOLETZKO, B. V. 2007. Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial. *Am J Clin Nutr*, 85, 1392-400.
- KRIS-ETHERTON, P. M., HARRIS, W. S. & APPEL, L. J. 2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*, 106, 2747-57.
- KRISHNADEV, N., MELETH, A. D. & CHEW, E. Y. 2010. Nutritional supplements for age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol*, 21, 184-9.
- KRISTJANSDOTTIR, A. G., ANDERSEN, L. F., HARALDSDOTTIR, J., DE ALMEIDA, M. D. & THORSDDOTTIR, I. 2006. Validity of a questionnaire to assess fruit and vegetable intake in adults. *Eur J Clin Nutr*, 60, 408-15.

- KUMAR, S. V. & BHATTACHARYA, S. 2000. In vitro toxicity of mercury, cadmium, and arsenic to platelet aggregation: influence of adenylate cyclase and phosphodiesterase activity. *In Vitro Mol Toxicol*, 13, 137-44.
- KUMAR, S. V., BOSE, R. & BHATTACHARYA, S. 2001. Low doses of heavy metals disrupt normal structure and function of rat platelets. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 20, 65-75.
- KUMAR, S. V., MAITRA, S. & BHATTACHARYA, S. 2002. In vitro binding of inorganic mercury to the plasma membrane of rat platelet affects Na⁺-K⁺-Atpase activity and platelet aggregation. *Biometals*, 15, 51-7.
- LAURITZEN, L., JORGENSEN, M. H., MIKKELSEN, T. B., SKOVGAARD, M., STRAARUP, E. M., OLSEN, S. F., HOY, C. E. & MICHAELSEN, K. F. 2004. Maternal fish oil supplementation in lactation: effect on visual acuity and n-3 fatty acid content of infant erythrocytes. *Lipids*, 39, 195-206.
- LE BOUIL, A., NOTELET, S., CAILLEUX, A., TURCANT, A. & ALLAIN, P. 1997. Dosage de l'arsenic urinaire après séparation de l'arsénobétaïne. *Toxicorama*, 9, 171-6.
- LEBLANC, J. C. 2006. CALIPSO, Fish and seafood consumption study and biomarker of exposure to trace elements, pollutants and omega 3. Geneva: AFSSA, DGAI, INRA.
- LEBLANC, J. C., GUERIN, T., NOEL, L., CALAMASSI-TRAN, G., VOLATIER, J. L. & VERGER, P. 2005. Dietary exposure estimates of 18 elements from the 1st French Total Diet Study. *Food Addit Contam*, 22, 624-41.
- LEBLANC, J. C., YOON, H., KOMBADJIAN, A. & VERGER, P. 2000. Nutritional intakes of vegetarian populations in France. *Eur J Clin Nutr*, 54, 443-9.
- LEMOULLEC, N., DEHEEGER, M., PREZIOSI, P., MONTERO, P., VALEIX, P., ROLLAND-CACHERA, M., POTIER DE COURCY, G., CHRISTIDES, J., CHEROUVRIER, F., GALAN, P. & HERCBERG, S. 1996. Validation du manuel-photos utilisé pour l'enquête alimentaire de l'étude SUVIMAX. *Cah Nutr Diet*, 31, 158-164.
- LICHTENSTEIN, A. H., APPEL, L. J., BRANDS, M., CARNETHON, M., DANIELS, S., FRANCH, H. A., FRANKLIN, B., KRIS-ETHERTON, P., HARRIS, W. S., HOWARD, B., KARANJA, N., LEFEVRE, M., RUDEL, L., SACKS, F., VAN HORN, L., WINSTON, M. & WYLIE-ROSETT, J. 2006. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation*, 114, 82-96.
- LINDBERG, A. L., GOESSLER, W., GURZAU, E., KOPPOVA, K., RUDNAI, P., KUMAR, R., FLETCHER, T., LEONARDI, G., SLOTOVA, K., GHEORGHIU, E. & VAHTER, M. 2006. Arsenic exposure in Hungary, Romania and Slovakia. *J Environ Monit*, 8, 203-8.
- LO TURCO, V., DI BELLA, G., LA PERA, L., CONTE, F., MACRI, B. & MO DUGO, G. 2007. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl residues in reared and wild *Dicentrarchus labrax* from the Mediterranean Sea (Sicily, Italy). *Environ Monit Assess*, 132, 411-7.
- MADSEN, L., RUSTAN, A. C., VAAGENES, H., BERGE, K., DYROY, E. & BERGE, R. K. 1999. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. *Lipids*, 34, 951-63.
- MAILLARD, V., BOUGNOUX, P., FERRARI, P., JOURDAN, M. L., PINAULT, M., LAVILLONNIERE, F., BODY, G., LE FLOCH, O. & CHAJES, V. 2002. N-3 and N-6 fatty acids in breast adipose tissue and relative risk of breast cancer in a case-control study in Tours, France. *Int J Cancer*, 98, 78-83.
- MALCOLM, C. A., MCCULLOCH, D. L., MONTGOMERY, C., SHEPHERD, A. & WEAVER, L. T. 2003. Maternal docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy and visual evoked potential development in term infants: a double blind, prospective, randomised trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 88, F383-90.
- MAPPES, R. 1977. [Experiments on excretion of arsenic in urine (author's transl)]. *Int Arch Occup Environ Health*, 40, 267-72.
- MARCHAND, P., ANTIGNAC, J., BROSSEAUD, A., GADE, C., VENISSEAU, A., SABATIE, M., SIROT, V., TARD, A., VOLATIER, J., LEBLANC, J., ANDRÉ, F. & LE BIZEC, B. 2006a. Factors (trophic levels, fish specie, habitat, fat content...) influencing PCDD/F, PCB and PBDE concentration in fish retailed in France. *Organohalogen Compd*, 68, 608-611.
- MARCHAND, P., ANTIGNAC, J., GADE, C., VENISSEAU, A., BROSSEAUD, A., BERTRAND, D., QANNARI EL, M., SIROT, V., TARD, A., VOLATIER, J., LEBLANC, J., ANDRÉ, F. & LE BIZEC, B. 2006b. Prediction of the dioxin, PCB, and Total WHO-TEQ values on the basis of five congener concentration: toward a new screening strategy for POPs in fish? *Organohalogen Compd*, 68, 1928-1931.
- MARTI-CID, R., BOCIO, A., LLOBET, J. M. & DOMINGO, J. L. 2007. Intake of chemical contaminants through fish and seafood consumption by children of Catalonia, Spain: health risks. *Food Chem Toxicol*, 45, 1968-74.

- MARTIN, A., AZAÏS-BRAESCO, V., BRESSON, J. L., COUET, C., CYNOBER, L., GUÉGUEN, L., LAIRON, D., LAVILLE, M., LEGRAND, P., PATUREAU MIRAND, P., PÈRÈS, G., POTIER DE COURCY, G. & VIDAILHET, M. 2001. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*, Paris, Tec&Doc.
- MAZZA, M., POMPONI, M., JANIRI, L., BRIA, P. & MAZZA, S. 2007. Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: an overview. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 31, 12-26.
- MCSHEELY, S., DONARD, O., DUMONT, J., GARRAUD, H., CHRISTOPHER, S., DAVIS, C., SIROT, V. & LEBLANC, J. C. 2006. Methylmercury and Inorganic Mercury Determination in blood using GC-ICP-MS. January 2006, . *Winter Plasma conference*. Tucson, Arizona, USA.
- MINA, K., FRITSCHI, L. & KNUIMAN, M. 2007. A valid semiquantitative food frequency questionnaire to measure fish consumption. *Eur J Clin Nutr*, 61, 1023-31.
- MINISTÈRE FRANÇAIS DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT 2002. Bilan de la qualité de l'air dans les grandes agglomérations 1997-2001, les chiffres. Paris, France: Ministère français de l'Écologie et du Développement.
- MISCHOULON, D., PAPAKOSTAS, G. I., DORDING, C. M., FARABAUGH, A. H., SONAWALLA, S. B., AGOSTON, A. M., SMITH, J., BEAUMONT, E. C., DAHAN, L. E., ALPERT, J. E., NIERENBERG, A. A. & FAVA, M. 2009. A double-blind, randomized controlled trial of ethyl-eicosapentaenoate for major depressive disorder. *J Clin Psychiatry*, 70, 1636-44.
- MITTMANN, N., TRAKAS, K., RISEBROUGH, N. & LIU, B. A. 1999. Utility scores for chronic conditions in a community-dwelling population. *Pharmacoeconomics*, 15, 369-76.
- MONPERRUS, M., KRUPP, E., AMOUROUX, D., DONARD, O. F. X. & RODRIGUEZ-MARTIN-DOIMEADIOS, R. C. 2004. Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for methodology and assessing environmental reactivity. *Trends Anal. Chem.*, 23, 261-72.
- MONPERRUS, M., MARTIN-DOIMEADIOS, R. C. R., SCANCAR, J., AMOUROUX, D. & DONARD, O. F. X. 2003. Simultaneous sample preparation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis of monomethylmercury monomethylmercury and tributyltin in a certified oyster tissue. *Anal. Chem.*, 75, 4095-102.
- MONPERRUS, M., TESSIER, E., VESCHAMBRE, S., AMOUROUX, D. & DONARD, O. F. X. 2005. Simultaneous speciation of mercury and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis. *Anal. Bioanal. Chem.*, 381, 854-62.
- MORI, T. A., BEILIN, L. J., BURKE, V., MORRIS, J. & RITCHIE, J. 1997. Interactions between dietary fat, fish, and fish oils and their effects on platelet function in men at risk of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17, 279-86.
- MORRIS, M. C., EVANS, D. A., BIENIAS, J. L., TANGNEY, C. C., BENNETT, D. A., WILSON, R. S., AGGARWAL, N. & SCHNEIDER, J. 2003. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 60, 940-6.
- MOZAFFARIAN, D. 2008. Fish and n-3 fatty acids for the prevention of fatal coronary heart disease and sudden cardiac death. *Am J Clin Nutr*, 87, 1991S-6S.
- MOZAFFARIAN, D. 2009. Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. *Int J Environ Res Public Health*, 6, 1894-916.
- MOZAFFARIAN, D. & RIMM, E. B. 2006. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *Jama*, 296, 1885-99.
- MUNOZ, O., BASTIAS, J. M., ARAYA, M., MORALES, A., ORELLANA, C., REBOLLEDO, R. & VELEZ, D. 2005. Estimation of the dietary intake of cadmium, lead, mercury, and arsenic by the population of Santiago (Chile) using a Total Diet Study. *Food Chem Toxicol*, 43, 1647-55.
- MURASE, T. & SAITO, H. 1996. The docosahexaenoic acid content in the lipid of albacore Thunnus alalunga caught in two separate localities. *Fisheries Science*, 62, 634-8.
- MURPHY, K. J., MEYER, B. J., MORI, T. A., BURKE, V., MANSOUR, J., PATCH, C. S., TAPSELL, L. C., NOAKES, M., CLIFTON, P. A., BARDEN, A., PUDDEY, I. B., BEILIN, L. J. & HOWE, P. R. 2007. Impact of foods enriched with n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on erythrocyte n-3 levels and cardiovascular risk factors. *Br J Nutr*, 97, 749-57.
- MURRAY, R. K., GRANNER, D. K., MAYES, P. A. & RODWELL, V. W. 2002. Structure et fonction des vitamines liposolubles. In: UNIVERSITÉ, D. B. (ed.) *Biochimie de Harper*. 25e ed. Bruxelles.
- NAGANUMA, A., KOYAMA, Y. & IMURA, N. 1980. Behavior of methylmercury in mammalian erythrocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*, 54, 405-10.
- NAKAMURA, K., NASHIMOTO, M., OKUDA, Y., OTA, T. & YAMAMOTO, M. 2002. Fish as a major source of vitamin D in the Japanese diet. *Nutrition*, 18, 415-6.
- NAKAMURA, Y., NARUKAWA, T. & YOSHINAGA, J. 2008. Cancer risk to Japanese population from the consumption of inorganic arsenic in cooked hijiki. *J Agric Food Chem*, 56, 2536-40.

- NOAGHIUL, S. & HIBBELN, J. R. 2003. Cross-national comparisons of seafood consumption and rates of bipolar disorders. *Am J Psychiatry*, 160, 2222-7.
- NOGAWA, K., HONDA, R., KIDO, T., TSURITANI, I., YAMADA, Y., ISHIZAKI, M. & YAMAYA, H. 1989. A dose-response analysis of cadmium in the general environment with special reference to total cadmium intake limit. *Environ Res*, 48, 7-16.
- NORAT, T., BINGHAM, S., FERRARI, P., SLIMANI, N., JENAB, M., MAZUIR, M., OVERVAD, K., OLSEN, A., TJONNELAND, A., CLAVEL, F., BOUTRON-ROUAULT, M. C., KESSE, E., BOEING, H., BERGMANN, M. M., NIETERS, A., LINSEISEN, J., TRICHOPOULOU, A., TRICHOPOULOS, D., TOUNTAS, Y., BERRINO, F., PALLI, D., PANICO, S., TUMINO, R., VINEIS, P., BUENO-DE-MESQUITA, H. B., PEETERS, P. H., ENGESET, D., LUND, E., SKEIE, G., ARDANAZ, E., GONZALEZ, C., NAVARRO, C., QUIROS, J. R., SANCHEZ, M. J., BERGLUND, G., MATTISSON, I., HALLMANS, G., PALMQVIST, R., DAY, N. E., KHAW, K. T., KEY, T. J., SAN JOAQUIN, M., HEMON, B., SARACCI, R., KAKS, R. & RIBOLI, E. 2005. Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst*, 97, 906-16.
- NRC 2000. *Toxicological Effects of Methylmercury*, Washington, DC, National Academy Press.
- NRC 2001. *Arsenic in drinking water - 2001 update*, Washington DC, The National Academic Press.
- OCA-CREDOC 1996. Les disparités régionales de la consommation alimentaire des ménages français. Paris.
- OHTA, H., ICHIKAWA, M. & SEKI, Y. 2002. Effects of cadmium intake on bone metabolism of mothers during pregnancy and lactation. *Tohoku J Exp Med*, 196, 33-42.
- OKEN, E., WRIGHT, R. O., KLEINMAN, K. P., BELLINGER, D., AMARASIRIWARDENA, C. J., HU, H., RICH-EDWARDS, J. W. & GILLMAN, M. W. 2005. Maternal fish consumption, hair mercury, and infant cognition in a U.S. Cohort. *Environ Health Perspect*, 113, 1376-80.
- OLSEN, S. F., HANSEN, H. S., SANDSTROM, B. & JENSEN, B. 1995. Erythrocyte levels compared with reported dietary intake of marine n-3 fatty acids in pregnant women. *Br J Nutr*, 73, 387-95.
- OMAROVA, A. & PHILLIPS, C. J. 2007. A meta-analysis of literature data relating to the relationships between cadmium intake and toxicity indicators in humans. *Environ Res*, 103, 432-40.
- ORTEGA-GARCIA, J. A., RODRIGUEZ, K., CALATAYUD, M., MARTIN, M., VELEZ, D., DEVESA, V., SANCHEZ-ALARCON, M. C., TORRES CANTERO, A. M., GALINDO-CASCALES, C., GIL-VAZQUEZ, J. M., SANCHEZ-SAUICO, M. F., SANCHEZ-SOLIS, M., ALFONSO-MARSILLA, B. & ROMERO-BRAQUEHAIS, F. 2008. Estimated intake levels of methylmercury in children, childbearing age and pregnant women in a Mediterranean region, Murcia, Spain. *Eur J Pediatr*.
- ÖZYURT, G., POLAT, A. & ÖZKÜTÜK, S. 2005. Seasonal changes in the fatty acids of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and white sea bream (*Diplodus sargus*) captured in Iskenderun Bay, eastern Mediterranean coast of Turkey. *European Food Research and Technology*, 220.
- PANEL ON MICRONUTRIENTS, S. O. U. R. L. O. N. A. O. I. A. U. O. D. R. I., AND THE STANDING COMMITTEE ON THE SCIENTIFIC EVALUATION OF DIETARY REFERENCE INTAKES 2001. Iron. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington, D.C., USA: National Academy Press.
- PARRA, M. S., SCHNAAS, L., MEYDANI, M., PERRONI, E., MARTINEZ, S. & ROMIEU, I. 2002. Erythrocyte cell membrane phospholipid levels compared against reported dietary intakes of polyunsaturated fatty acids in pregnant Mexican women. *Public Health Nutr*, 5, 931-7.
- PAWLOSKY, R., HIBBELN, J., LIN, Y. & SALEM, N., JR. 2003. n-3 fatty acid metabolism in women. *Br J Nutr*, 90, 993-4; discussion 994-5.
- PAWLOSKY, R. J. & SALEM, N., JR. 2004. Perspectives on alcohol consumption: liver polyunsaturated fatty acids and essential fatty acid metabolism. *Alcohol*, 34, 27-33.
- PELLIZZARI, E. D. & CLAYTON, C. A. 2006. Assessing the measurement precision of various arsenic forms and arsenic exposure in the National Human Exposure Assessment Survey (NHEXAS). *Environ Health Perspect*, 114, 220-7.
- PHELPS, R. W., CLARKSON, T. W., KERSHAW, T. G. & WHEATLEY, B. 1980. Interrelationships of blood and hair mercury concentrations in a North American population exposed to methylmercury. *Arch Environ Health*, 35, 161-8.
- PHILIBERT, A., VANIER, C., ABDELOUAHAB, N., CHAN, H. M. & MERGLER, D. 2006. Fish intake and serum fatty acid profiles from freshwater fish. *Am J Clin Nutr*, 84, 1299-307.
- PURI, B. K., TREASADEN, I. H., COCCHI, M., TSALUCHIDU, S., TONELLO, L. & ROSS, B. M. 2008. A comparison of oxidative stress in smokers and non-smokers: an in vivo human quantitative study of n-3 lipid peroxidation. *BMC Psychiatry*, 8 Suppl 1, S4.
- QI, K., FAN, C., JIANG, J., ZHU, H., JIAO, H., MENG, Q. & DECKELBAUM, R. J. 2008. Omega-3 fatty acid containing diets decrease plasma triglyceride concentrations in mice by reducing endogenous

- triglyceride synthesis and enhancing the blood clearance of triglyceride-rich particles. *Clin Nutr*, 27, 424-30.
- RAHMAN, M. A., HASEGAWA, H., RAHMAN, M. M. & MIAH, M. A. 2006. Influence of cooking method on arsenic retention in cooked rice related to dietary exposure. *Sci Total Environ*, 370, 51-60.
- RAML, R., RABER, G., RUMPLER, A., BAUERNHOFER, T., GOESSLER, W. & FRANCESCONI, K. A. 2009. Individual variability in the human metabolism of an arsenic-containing carbohydrate, 2',3'-dihydroxypropyl 5-deoxy-5-dimethylarsinoyl-beta-D-ribose, a naturally occurring arsenical in seafood. *Chem Res Toxicol*, 22, 1534-40.
- RÈGLEMENT (CE) NO 199/2006 2006. Règlement (CE) No 199/2006 de la Commission du 3 février 2006 modifiant le règlement (CE) no 466/2001 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires, en ce qui concerne les dioxines et les PCB de type dioxine.
- RÈGLEMENT (CE) NO 2375/2001 2001. Règlement (CE) No 2375/2001 du Conseil du 29 novembre 2001 modifiant le règlement (CE) no 466/2001 de la Commission portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. In: EUROPÉENNE, C. D. L. U. (ed.).
- RENWICK, A. G., FLYNN, A., FLETCHER, R. J., MULLER, D. J., TUIJTELAARS, S. & VERHAGEN, H. 2004. Risk-benefit analysis of micronutrients. *Food Chem Toxicol*, 42, 1903-22.
- RICE, D. C. 2008. Overview of modifiers of methylmercury neurotoxicity: chemicals, nutrients, and the social environment. *Neurotoxicology*, 29, 761-6.
- RICE, D. C., SCHOENY, R. & MAHAFFEY, K. 2003. Methods and rationale for derivation of a reference dose for methylmercury by the U.S. EPA. *Risk Anal*, 23, 107-15.
- RIOUX, V., LEMARCHAL, P. & LEGRAND, P. 2000. Myristic acid, unlike palmitic acid, is rapidly metabolized in cultured rat hepatocytes. *J Nutr Biochem*, 11, 198-207.
- RISSANEN, T., VOUTILAINEN, S., NYSSONEN, K., LAKKA, T. A. & SALONEN, J. T. 2000. Fish oil-derived fatty acids, docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid, and the risk of acute coronary events: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Circulation*, 102, 2677-9.
- RIVIER, C., STUMPF, C., LABARRAQUE, G., HERVOUËT, G., DÉSENFANT, M., PRIEL, M., ROUYER, J. M. & SEILLER, M. P. 2005. Matériaux de référence et essais d'aptitude : deux outils au service de la qualité des analyses (in French). *Spectra Anal.*, 256.
- RIVM 2001. Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels - RIVM Rapport 711701025. RIVM.
- ROBENSTEIN, R. G. & THURMAN, W. N. 1996. Health risk and the demand for red meat: Evidence from futures markets. *Review of agricultural economics*, 18, 629-41.
- ROMIEU, I., CASTRO-GINER, F., KUNZLI, N. & SUNYER, J. 2008. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review. *Eur Respir J*, 31, 179-97.
- ROMIEU, I., TELLEZ-ROJO, M. M., LAZO, M., MANZANO-PATINO, A., CORTEZ-LUGO, M., JULIEN, P., BELANGER, M. C., HERNANDEZ-AVILA, M. & HOLGUIN, F. 2005. Omega-3 fatty acid prevents heart rate variability reductions associated with particulate matter. *Am J Respir Crit Care Med*, 172, 1534-40.
- ROTHENBERG, E. M. 2009. Experience of dietary assessment and validation from three Swedish studies in the elderly. *Eur J Clin Nutr*, 63 Suppl 1, S64-8.
- ROY, P. & SAHA, A. 2002. Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. *Current Science*, 82, 38-45.
- SALONEN, J. T., SEPPANEN, K., LAKKA, T. A., SALONEN, R. & KAPLAN, G. A. 2000. Mercury accumulation and accelerated progression of carotid atherosclerosis: a population-based prospective 4-year follow-up study in men in eastern Finland. *Atherosclerosis*, 148, 265-73.
- SALONEN, J. T., SEPPANEN, K., NYSSONEN, K., KORPELA, H., KAUKANEN, J., KANTOLA, M., TUOMILEHTO, J., ESTERBAUER, H., TATZBER, F. & SALONEN, R. 1995. Intake of mercury from fish, lipid peroxidation, and the risk of myocardial infarction and coronary, cardiovascular, and any death in eastern Finnish men. *Circulation*, 91, 645-55.
- SANDS, S. A., REID, K. J., WINDSOR, S. L. & HARRIS, W. S. 2005. The impact of age, body mass index, and fish intake on the EPA and DHA content of human erythrocytes. *Lipids*, 40, 343-7.
- SANTRA, A., MAITI, A., DAS, S., LAHIRI, S., CHARKABORTY, S. K. & MAZUMDER, D. N. 2000. Hepatic damage caused by chronic arsenic toxicity in experimental animals. *J Toxicol Clin Toxicol*, 38, 395-405.
- SATARUG, S. & MOORE, M. R. 2004. Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environ Health Perspect*, 112, 1099-103.
- SCF 2000. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Selenium. Brussels, Belgium: SCF.
- SCF 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Iodine. Brussels, Belgium: SCF.

- SCHMEISSER, E., RUMPLER, A., KOLLROSER, M., RECHBERGER, G., GOESSLER, W. & FRANCESCONI, K. 2006. Arsenic fatty acids are human urinary metabolites of arsenolipids present in cod liver. *Angewandte Chemie*, 45, 150-4.
- SCHOBER, S. E., SINKS, T. H., JONES, R. L., BOLGER, P. M., MCDOWELL, M., OSTERLOH, J., GARRETT, E. S., CANADY, R. A., DILLON, C. F., SUN, Y., JOSEPH, C. B. & MAHAFFEY, K. R. 2003. Blood mercury levels in US children and women of childbearing age, 1999-2000. *Jama*, 289, 1667-74.
- SCHOFIELD, W. N. 1985. Predicting basal metabolic rate, new standards and review of previous work. *Hum Nutr Clin Nutr*, 39 Suppl 1, 5-41.
- SCHOOF, R. A., YOST, L. J., EICKHOFF, J., CRECELIUS, E. A., CRAGIN, D. W., MEACHER, D. M. & MENZEL, D. B. 1999. A market basket survey of inorganic arsenic in food. *Food Chem Toxicol*, 37, 839-46.
- SCHWARTZ, J., PARK, S. K., O'NEILL, M. S., VOKONAS, P. S., SPARROW, D., WEISS, S. & KELSEY, K. 2005. Glutathione-S-transferase M1, obesity, statins, and autonomic effects of particles: gene-by-drug-by-environment interaction. *Am J Respir Crit Care Med*, 172, 1529-33.
- SEPPANEN, K., SOININEN, P., SALONEN, J. T., LOTJONEN, S. & LAATIKAINEN, R. 2004. Does mercury promote lipid peroxidation? An in vitro study concerning mercury, copper, and iron in peroxidation of low-density lipoprotein. *Biol Trace Elem Res*, 101, 117-32.
- SHANKER, G., ALLEN, J. W., MUTKUS, L. A. & ASCHNER, M. 2001. Methylmercury inhibits cysteine uptake in cultured primary astrocytes, but not in neurons. *Brain Res*, 914, 159-65.
- SHANKER, G. & ASCHNER, M. 2003. Methylmercury-induced reactive oxygen species formation in neonatal cerebral astrocytic cultures is attenuated by antioxidants. *Brain Res Mol Brain Res*, 110, 85-91.
- SHU, X. O., YANG, G., JIN, F., LIU, D., KUSHI, L., WEN, W., GAO, Y. T. & ZHENG, W. 2004. Validity and reproducibility of the food frequency questionnaire used in the Shanghai Women's Health Study. *Eur J Clin Nutr*, 58, 17-23.
- SIGNES, A., MITRA, K., BURLO, F. & CARBONELL-BARRACHINA, A. A. 2008. Contribution of water and cooked rice to an estimation of the dietary intake of inorganic arsenic in a rural village of West Bengal, India. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 25, 41-50.
- SIMOENS, C. M., DECKELBAUM, R. J., MASSAUT, J. J. & CARPENTIER, Y. A. 2008. Inclusion of 10% fish oil in mixed medium-chain triacylglycerol-long-chain triacylglycerol emulsions increases plasma triacylglycerol clearance and induces rapid eicosapentaenoic acid (20:5n-3) incorporation into blood cell phospholipids. *Am J Clin Nutr*, 88, 282-8.
- SIMON, J. A., FONG, J., BERNERT, J. T., JR. & BROWNER, W. S. 1996. Relation of smoking and alcohol consumption to serum fatty acids. *Am J Epidemiol*, 144, 325-34.
- SIMON, S., LOBOS, G., PANNIER, F., DE GREGORI, I., PINOCHET, H. & POTIN-GAUTIER, M. 2004a. Speciation analysis of organoarsenical compounds in biological matrices by coupling ion chromatography to atomic fluorescence spectrometry with on-line photooxidation and hydride generation. *M Anal Chim Acta*, 521, 99-108.
- SIMON, S., TRAN, H., PANNIER, F. & POTIN-GAUTIER, M. 2004b. Simultaneous determination of twelve inorganic and organic arsenic compounds by liquid chromatography-ultraviolet irradiation-hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *J Chromatogr A*, 1024, 105-13.
- SIOEN, I., LEBLANC, J. C., VOLATIER, J. L., DE HENAUW, S. & VAN CAMP, J. 2008a. Evaluation of the exposure methodology for risk-benefit assessment of seafood consumption. *Chemosphere*, 73, 1582-8.
- SIOEN, I., VAN CAMP, J., VERDONCK, F., VERBEKE, W., VANHONACKER, F., WILLEMS, J. & DE HENAUW, S. 2008b. Probabilistic intake assessment of multiple compounds as a tool to quantify the nutritional-toxicological conflict related to seafood consumption. *Chemosphere*, 71, 1056-66.
- SIOEN, I. A., PYNAERT, I., MATTHYS, C., DE BACKER, G., VAN CAMP, J. & DE HENAUW, S. 2006. Dietary intakes and food sources of fatty acids for Belgian women, focused on n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 41, 415-22.
- SIROT, V., GUERIN, T., MAURAS, Y., GARRAUD, H., VOLATIER, J. L. & LEBLANC, J. C. 2008a. Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France CALIPSO study. *Environ Res*, 107, 30-8.
- SIROT, V., GUERIN, T., VOLATIER, J. L. & LEBLANC, J. C. 2009. Dietary exposure and biomarkers of arsenic in consumers of fish and shellfish from France. *Sci Total Environ*, 407, 1875-85.
- SIROT, V., OSEREDCZUK, M., BEMRAH-AOUACHRIA, N., VOLATIER, J. L. & LEBLANC, J. C. 2008b. Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France: CALIPSO study. *J Food Comp Anal*, 21, 8-16.
- SIROT, V., SAMIERI, C., VOLATIER, J. L. & LEBLANC, J. C. 2008c. Cadmium dietary intake and biomarker data in French high seafood consumers. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 18, 400-9.

- SISCOVICK, D. S., RAGHUNATHAN, T. E., KING, I., WEINMANN, S., WICKLUND, K. G., ALBRIGHT, J., BOVBJERG, V., ARBOGAST, P., SMITH, H., KUSHI, L. H. & ET AL. 1995. Dietary intake and cell membrane levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *Jama*, 274, 1363-7.
- SLOTNICK, M. J. & NRIAGU, J. O. 2006. Validity of human nails as a biomarker of arsenic and selenium exposure: A review. *Environ Res*, 102, 125-39.
- SMITH, P. 1979. Splines As a Useful and Convenient Statistical Tool. *Am Stat*, 33, 57-62.
- SPENCER, L., MANN, C., METCALFE, M., WEBB, M., POLLARD, C., SPENCER, D., BERRY, D., STEWARD, W. & DENNISON, A. 2009. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential. *Eur J Cancer*, 45, 2077-86.
- STAESSEN, J. A., BUCHET, J. P., GINUCCHIO, G., LAUWERYS, R. R., LIJNEN, P., ROELS, H. & FAGARD, R. 1996. Public health implications of environmental exposure to cadmium and lead: an overview of epidemiological studies in Belgium. Working Groups. *J Cardiovasc Risk*, 3, 26-41.
- STEENLAND, K. & DEDDENS, J. A. 2004. A practical guide to dose-response analyses and risk assessment in occupational epidemiology. *Epidemiology*, 15, 63-70.
- STERN, A. H. 2005. A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment. *Environ Res*, 98, 133-42.
- STOCKER, R. & KEANEY, J. F., JR. 2004. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev*, 84, 1381-478.
- STOLL, A. L., SEVERUS, W. E., FREEMAN, M. P., RUETER, S., ZBOYAN, H. A., DIAMOND, E., CRESS, K. K. & MARANGELL, L. B. 1999. Omega 3 fatty acids in bipolar disorder: a preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*, 56, 407-12.
- STORELLI, M. M. 2008. Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food Chem Toxicol*, 46, 2782-8.
- STRAIF, K., BENBRAHIM-TALLAA, L., BAAN, R., GROSSE, Y., SECRETAN, B., EL GHISSASSI, F., BOUVARD, V., GUHA, N., FREEMAN, C., GALICHET, L. & COGLIANO, V. 2009. A review of human carcinogens--part C: metals, arsenic, dusts, and fibres. *Lancet Oncol*, 10, 453-4.
- SUN, Q., MA, J., CAMPOS, H., HANKINSON, S. E. & HU, F. B. 2007. Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *Am J Clin Nutr*, 86, 74-81.
- SVENSSON, B. G., AKESSON, B., NILSSON, A. & SKERFVING, S. 1993. Fatty acid composition of serum phosphatidylcholine in healthy subjects consuming varying amounts of fish. *Eur J Clin Nutr*, 47, 132-40.
- TANGUY, S., TOUFEKTSIAN, M. C., BESSE, S., DUCROS, V., DE LEIRIS, J. & BOUCHER, F. 2003. Dietary selenium intake affects cardiac susceptibility to ischaemia/reperfusion in male senescent rats. *Age Ageing*, 32, 273-8.
- TAO, S. S. & BOLGER, P. M. 1999. Dietary arsenic intakes in the United States: FDA Total Diet Study, September 1991-December 1996. *Food Addit Contam*, 16, 465-72.
- THOMAS, L. D., HODGSON, S., NIEUWENHUIJSEN, M. & JARUP, L. 2009. Early kidney damage in a population exposed to cadmium and other heavy metals. *Environ Health Perspect*, 117, 181-4.
- TIMONEN, M., HORROBIN, D., JOKELAINEN, J., LAITINEN, J., HERVA, A. & RASANEN, P. 2004. Fish consumption and depression: the Northern Finland 1966 birth cohort study. *J Affect Disord*, 82, 447-52.
- TORRES-ESCRIBANO, S., LEAL, M., VELEZ, D. & MONTORO, R. 2008. Total and inorganic arsenic concentrations in rice sold in Spain, effect of cooking, and risk assessments. *Environ Sci Technol*, 42, 3867-72.
- TOUVIER, M., BOUTRON-RUAULT, M. C., VOLATIER, J. L. & MARTIN, A. 2005. Efficacy and safety of regular vitamin and mineral supplement use in France: results from the ECCA study. *Int J Vitam Nutr Res*, 75, 201-9.
- TOUVIER, M., LIORET, S., VANRULLEN, I., BOCLE, J. C., BOUTRON-RUAULT, M. C., BERTA, J. L. & VOLATIER, J. L. 2006. Vitamin and mineral inadequacy in the French population: estimation and application for the optimization of food fortification. *Int J Vitam Nutr Res*, 76, 343-51.
- TRESSOU, J., CREPET, A., BERTAIL, P., FEINBERG, M. H. & LEBLANC, J. 2004. Probabilistic exposure assessment to food chemicals based on extreme value theory. Application to heavy metals from fish and sea products. *Food Chem Toxicol*, 42, 1349-58.
- TSENG, W. P. 1977. Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. *Environ Health Perspect*, 19, 109-19.
- TSENG, W. P., CHU, H. M., HOW, S. W., FONG, J. M., LIN, C. S. & YEH, S. 1968. Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. *J Natl Cancer Inst*, 40, 453-63.

- TSUDA, T., INOUE, T., KOJIMA, M. & AOKI, S. 1995. Market basket and duplicate portion estimation of dietary intakes of cadmium, mercury, arsenic, copper, manganese, and zinc by Japanese adults. *J AOAC Int*, 78, 1363-8.
- UCHINO, T., ROYCHOWDHURY, T., ANDO, M. & TOKUNAGA, H. 2006. Intake of arsenic from water, food composites and excretion through urine, hair from a studied population in West Bengal, India. *Food Chem Toxicol*, 44, 455-61.
- US-ATSDR 1999. Toxicological profile for Mercury. US-ATSDR.
- US EPA 1988. Special Report on Ingested Inorganic Arsenic, Skin Cancer; Nutritional Essentiality. Washington, DC: US EPA.
- US EPA 1993. Arsenic, inorganic (CASRN 7440-38-2). Washington, DC: US EPA.
- US EPA. 2000. *Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use In Fish Advisories* [Online]. Washington, DC: US EPA. Available: <http://www.epa.gov/waterscience/fish/advice/volume2/index.html> [Accessed 27/03/09 2009].
- US EPA 2001a. Methylmercury (MeHg) (CASRN 22967-92-6). US EPA.
- US EPA 2001b. National Primary Drinking Water Regulations; Arsenic and Clarifications to Compliance and New Source Contaminants Monitoring. US EPA.
- USDA 2009. USDA National Nutrient Database for Standard Reference.
- USFDA/WHO 1999. Total Diet Studies (TDS). Consultation US FDA/OMS, Kansas City, MO, USA.
- VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M. T., MAZUR, M. & TELSER, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39, 44-84.
- VELEZ, D. & MONTORO, R. 2001. Inorganic arsenic in foods: Current overview and future challenges. *Recent research developments in agricultural & food chemistry*, 5, 55-71.
- VELEZ, D., YBANEZ, N. & MONTORO, R. 1995. Percentages of total arsenic represented by arsenobetaine levels of manufactured seafood products. *J Agric Food Chem*, 43, 1289-1294.
- VERBEKE, W., SIOEN, I., PIENIAK, Z., VAN CAMP, J. & DE HENAUW, S. 2005. Consumer perception versus scientific evidence about health benefits and safety risks from fish consumption. *Public Health Nutr*, 8, 422-9.
- VERBEKE, W. & WARD, R. W. 2001. A fresh meat almost ideal demand system incorporating negative TV press and advertising impact. *Agricultural Economics*, 25, 359-74.
- VERGER, P., HOUDART, S., MARETTE, S., ROOSEN, J. & BLANCHEMANCHE, S. 2007. Impact of a risk-benefit advisory on fish consumption and dietary exposure to methylmercury in France. *Regul Toxicol Pharmacol*, 48, 259-69.
- VERGER, P., KHALFI, N., ROY, C., BLANCHEMANCHE, S., MARETTE, S. & ROOSEN, J. 2008. Balancing the risk of dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) and the benefit of long-chain polyunsaturated fatty acids of the n-3 variety for French fish consumers in western coastal areas. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 25, 765-71.
- VIRTANEN, J. K., VOUTILAINEN, S., RISSANEN, T. H., MURSU, J., TUOMAINEN, T. P., KORHONEN, M. J., VALKONEN, V. P., SEPPANEN, K., LAUKKANEN, J. A. & SALONEN, J. T. 2005. Mercury, fish oils, and risk of acute coronary events and cardiovascular disease, coronary heart disease, and all-cause mortality in men in eastern Finland. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 228-33.
- VIZZINI, S., TRAMATI, C. & MAZZOLA, A. 2010. Comparison of stable isotope composition and inorganic and organic contaminant levels in wild and farmed bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, in the Mediterranean Sea. *Chemosphere*, 78, 1236-43.
- VOLATIER, J. 2000. *Enquête INCA, individuelle et nationale sur les consommations alimentaires*, Paris, Tec&Doc.
- VOS, J. G., DE KLERK, A., KRAJNC, E. I., VAN LOVEREN, H. & ROZING, J. 1990. Immunotoxicity of bis(tri-n-butyltin)oxide in the rat: effects on thymus-dependent immunity and on nonspecific resistance following long-term exposure in young versus aged rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 105, 144-55.
- VUCKOVIC, N., RITENBAUGH, C., TAREN, D. L. & TOBAR, M. 2000. A qualitative study of participants' experiences with dietary assessment. *J Am Diet Assoc*, 100, 1023-8.
- WAKAI, K., ITO, Y., KOJIMA, M., TOKUDOME, S., OZASA, K., INABA, Y., YAGYU, K. & TAMAKOSHI, A. 2005. Intake frequency of fish and serum levels of long-chain n-3 fatty acids: a cross-sectional study within the Japan Collaborative Cohort Study. *J Epidemiol*, 15, 211-8.
- WAYNE, E. & CASCIO, M. 2005. Cardiopulmonary health effects of air pollution: Is a mechanism emerging? *Am J Respir Crit Care Med*, 172, 1482-4.
- WEILL, P., SCHMITT, B., CHESNEAU, G., DANIEL, N., SAFRAOU, F. & LEGRAND, P. 2002. Effects of introducing linseed in livestock diet on blood fatty acid composition of consumers of animal products. *Ann Nutr Metab*, 46, 182-91.

- WELCH, A. A., BINGHAM, S. A., IVE, J., FRIESEN, M. D., WAREHAM, N. J., RIBOLI, E. & KHAW, K. T. 2006. Dietary fish intake and plasma phospholipid n-3 polyunsaturated fatty acid concentrations in men and women in the European Prospective Investigation into Cancer-Norfolk United Kingdom cohort. *Am J Clin Nutr*, 84, 1330-9.
- WERGEDAHL, H., LIASET, B., GUDBRANDSEN, O. A., LIED, E., ESPE, M., MUNA, Z., MORK, S. & BERGE, R. K. 2004. Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL cholesterol, and lowers acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. *J Nutr*, 134, 1320-7.
- WESTER, P. W., KRAJNC, E. I., VAN LEEUWEN, F. X., LOEBER, J. G., VAN DER HEIJDEN, C. A., VAESSEN, H. A. & HELLEMAN, P. W. 1990. Chronic toxicity and carcinogenicity of bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) in the rat. *Food Chem Toxicol*, 28, 179-96.
- WHO-IPCS 2001. Arsenic and arsenic compounds. Environmental Health Criteria 224. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 1967. Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some emulsifiers and stabilizers and certain other substances. 10th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. In: 373, W. T. R. S. N. (ed.). Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 1990. Environmental Health Criteria 101, Methylmercury. Geneva, Switzerland.
- WHO 1996. Iodine. In: WHO (ed.) *Trace elements in human nutrition and health*. Geneva, Switzerland.
- WHO 1997. Report of the Joint FAO/WHO Consultation on food consumption and exposure assessment of chemicals. Report of a FAO/WHO Consultation. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 2001. Evaluation of certain food additives and contaminants. 55th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 2002. Evaluation of certain food additives and contaminants. 57th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 2003. Polychlorinated biphenyls: Human health aspects. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 2004. Evaluation of certain food additives and contaminants. 61st report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 2006a. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Committee on general principles. Twenty-third Session. Proposed new definitions of Risk Analysis terms related to Food Safety (Proposal from New Zealand). Paris, France: WHO.
- WHO 2006b. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. 64th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 2007. Evaluation of certain food additives and contaminants. 67th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants. Geneva, Switzerland: WHO.
- WHO 2010. Arsenic. 72nd Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants. First draft. Rome, Italy.
- WIERZBICKI, R., PRAZANOWSKI, M., MICHALSKA, M., KRAJEWSKA, U. & MIELICKI, W. P. 2002. Disorders in blood coagulation in humans occupationally exposed to mercuric vapors. *J Trace Elem Exp Med*, 15, 21-9.
- WILLIAMS, M. A., FREDERICK, I. O., QIU, C., MERYMAN, L. J., KING, I. B., WALSH, S. W. & SORENSEN, T. K. 2006. Maternal erythrocyte omega-3 and omega-6 fatty acids, and plasma lipid concentrations, are associated with habitual dietary fish consumption in early pregnancy. *Clin Biochem*, 39, 1063-70.
- WU, M. M., KUO, T. L., HWANG, Y. H. & CHEN, C. J. 1989. Dose-response relation between arsenic concentration in well water and mortality from cancers and vascular diseases. *Am J Epidemiol*, 130, 1123-32.
- WU, Q., MAGNUS, J. H. & HENTZ, J. G. 2009. Urinary cadmium, osteopenia, and osteoporosis in the US population. *Osteoporos Int*.
- XUE, J., ZARTARIAN, V., WANG, S. W., LIU, S. V. & GEORGOPOULOS, P. 2010. Probabilistic Modeling of Dietary Arsenic Exposure and Dose and Evaluation with 2003-2004 NHANES Data. *Environ Health Perspect*, 118, 345-50.
- YAGINUMA-SAKURAI, K., SHIMADA, M., OHBA, T., NAKAI, K., SUZUKI, K., KUROKAWA, N., KAMEO, S. & SATOH, H. 2009. Assessment of exposure to methylmercury in pregnant Japanese women by FFQ. *Public Health Nutr*, 12, 2352-8.
- YIN, Z., MILATOVIC, D., ASCHNER, J. L., SYVERSEN, T., ROCHA, J. B., SOUZA, D. O., SIDORYK, M., ALBRECHT, J. & ASCHNER, M. 2007. Methylmercury induces oxidative injury, alterations in permeability and glutamine transport in cultured astrocytes. *Brain Res*, 1131, 1-10.
- YOSHIZAWA, K., RIMM, E. B., MORRIS, J. S., SPATE, V. L., HSIEH, C. C., SPIEGELMAN, D., STAMPFER, M. J. & WILLETT, W. C. 2002. Mercury and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med*, 347, 1755-60.

- YOST, L. J., SCHOOF, R. A. & AUCOIN, R. 1998. Intake of inorganic arsenic in the North American diet. *Hum Ecol Risk Assess*, 4, 137-152.
- YOST, L. J., TAO, S. H., EGAN, S. K., BARRAJ, L. M., SMITH, K. M., TSUJI, J. S., LOWNY, Y. W., SCHOOF, R. A. & RACHMAN, N. J. 2004. Estimation of dietary intake of inorganic arsenic in US children. *Hum Ecol Risk Assess*, 10, 473-83.
- ZAWADZKI, M., GAC, P., POREBA, R., MURAWSKA-CIALOWICZ, E., WIELKOSZYNSKI, T., JANUSZEWSKA, L., PAWLAS, K. & ANDRZEJAK, R. 2008. Levels of hemoglobin and lipid peroxidation metabolites in blood, catalase activity in erythrocytes and peak expiratory flow rate in subjects with passive exposure to tobacco smoke. *Pol Arch Med Wewn*, 118, 705-12.
- ZHANG, X. & BEYNEN, A. C. 1993. Influence of dietary fish proteins on plasma and liver cholesterol concentrations in rats. *Br J Nutr*, 69, 767-77.
- ZIMMER, L., DELION-VANCASSEL, S., DURAND, G., GUILLOTEAU, D., BODARD, S., BESNARD, J. C. & CHALON, S. 2000. Modification of dopamine neurotransmission in the nucleus accumbens of rats deficient in n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res*, 41, 32-40.

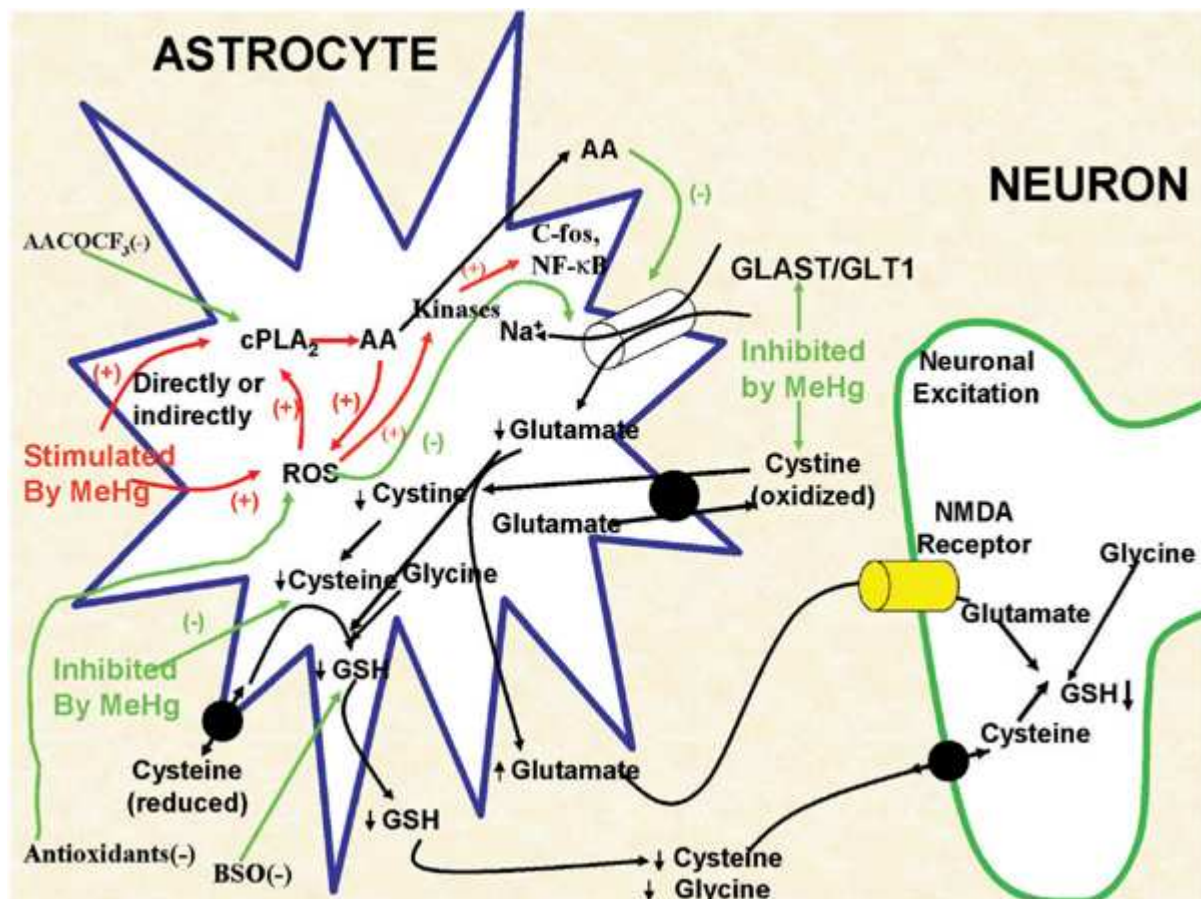
9 Annexes

9.1 Annexe 1. Synthèse des principaux mécanismes d'action du méthylmercure et des acides gras polyinsaturés oméga 3 à longue chaîne

Méthylmercure et neurotoxicité :

Plusieurs études ont montré que l'affinité du méthylmercure pour les groupements sulfhydryle (-SH) pourrait être déterminante dans ses mécanismes d'action neurotoxique (Yin et al., 2007). Il se fixerait ainsi aux transporteurs du glutamate et de la cystéine au niveau du système nerveux central, préférentiellement dans les astrocytes. Les transferts de neurotransmetteurs seraient ainsi limités, ce qui aurait pour conséquence une altération des fonctions neurocérébrales (Allen et al., 2001, Shanker et al., 2001, Shanker and Aschner, 2003). L'accumulation de glutamate dans l'espace synaptique modifie les transferts ioniques et entraîne un apport excessif de calcium dans les neurones qui, à terme, est cytotoxique (Figure 12) (Aschner and Syversen, 2005, Duchen, 2000).

De plus, cette inhibition des transferts (cystine et cystéine) réduirait la production de glutathion, qui est synthétisé dans le cytosol par la glutamate-cystéine ligase et la glutathion synthétase. La glutathion peroxydase (GSH-Px), dont le rôle est majeur dans les systèmes de défense contre le stress oxydant, utilise comme donneur d'hydrogène le glutathion réduit ($\text{GSH} \rightarrow \text{GSSG}$). La synthèse de glutathion étant réduite, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) est favorisée, ainsi que la peroxydation, ses effets et les dysfonctionnements neuronaux ROS-dépendants (Aschner and Syversen, 2005).



Les flèches et le texte en rouge indiquent les voies par lesquelles le méthylmercure stimule les mécanismes cellulaires. Les flèches et le texte en vert indiquent les voies par lesquelles le méthylmercure inhibe les mécanismes cellulaires. Par exemple, le méthylmercure stimule la libération d'acide arachidonique (AA) par les astrocytes et la libération de glutamate. En parallèle, le méthylmercure inhibe le recaptage du glutamate ainsi que de nombreux acides aminés associés à la synthèse du glutathion astrocytique (GSH). La combinaison de ces effets conduit à une réduction de la concentration de GSH intracellulaire et une augmentation de la concentration synaptique de glutamate, qui chacun leur tour activent les récepteurs NMDA des neurones adjacents, altérant et/ou détruisant les neurones.

cPLA₂ = phospholipase A₂ cytosolique ; ROS = espèces réactives de l'oxygène ; NF-κB = facteur nucléaire kappa B ; BSO = L-buthionine-[S,R]-sulfoximine ; NMDA = N-méthyl D-aspartate ; GLAST = transporteur glutamate aspartate ; GLT1 = transporteur glutamate 1.

[Extrait de : *Involvement of glutamate and reactive oxygen species in methylmercury neurotoxicity*. M. Aschner, T. Syversen, D.O. Souza, J.B.T. Rocha and M. Farina. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 285-291.]

Figure 12 : Schéma de quelques voies d'action neurotoxique du méthylmercure

Méthylmercure et risque cardiovasculaire :

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer l'association observée entre l'exposition au méthylmercure et une réduction des effets protecteurs des omégas 3 sur la santé cardiovasculaire.

Un premier mécanisme repose sur l'affinité du méthylmercure pour certaines enzymes, chaînes ioniques ou encore certains récepteurs, résultant en une inhibition des systèmes antioxydants endogènes et en la production de radicaux libres (NRC, 2000). Le mercure, du fait de sa forte affinité pour le sélénium, peut former avec lui un complexe insoluble et ainsi en réduire la biodisponibilité. Le sélénium ne serait pas intégré sous forme de sélénoprotéines aux enzymes antioxydantes telles que la GSH-Px, diminuant ainsi les défenses antioxydantes (Civin-Aralar and Furness, 1991, Virtanen et

al., 2005). Ceci favoriserait la peroxydation lipidique dans les membranes cellulaires et les lipoprotéines, induisant une augmentation des lipoprotéines de faible densité (LDL) oxydés (Andersen and Andersen, 1993, Salonen et al., 2000) qui contribuent au processus d'athérosclérose (Stocker and Keaney, 2004).

Un autre mécanisme par lequel le mercure accroîtrait le risque cardiovasculaire est l'inactivation des groupes thiols (Naganuma et al., 1980, Virtanen et al., 2005). Autrefois nommés mercaptan, du latin *mercurius captans*, « qui capte le mercure », les groupes thiols comportent un groupement sulfhydryle (-SH) pour lequel le mercure a une forte affinité. En se fixant aux thiols de la pompe membranaire sodium-potassium (Na^+/K^+ -ATPase), le mercure réduirait les transferts ioniques et provoquerait des changements dans les fonctions plaquettaires, notamment l'agrégation plaquettaire induite par l'adenosine diphosphate (Kumar and Bhattacharya, 2000, Kumar et al., 2001, Kumar et al., 2002) et une hypercoagulation (Wierzbicki et al., 2002). Le méthylmercure induit également des modifications dose-dépendantes de la structure lipidique de la membrane monocyttaire (InSug et al., 1997). En perturbant le fonctionnement cellulaire et les réponses inflammatoires, l'exposition au méthylmercure déclenche une réponse apoptotique de la cellule, dose-dépendante et croissante avec la durée d'exposition (InSug et al., 1997).

Enfin, le méthylmercure inhiberait la formation et la migration des cellules endothéliales, de façon dose-dépendante, favorisant l'hypertension et l'artériosclérose (Kishimoto et al., 1995). Le mécanisme par lequel ce phénomène interviendrait n'est pas clairement établi, mais il est possible que le méthylmercure perturbe l'activité des facteurs de croissance et/ou le collagène qui stimulent la migration cellulaire.

Oméga 3 et effets cardiovasculaires :

De nombreuses études ont montré que la consommation de poisson ou de poissons gras pouvait être associée à des effets protecteurs sur les maladies cardiovasculaires (Mozaffarian, 2008), notamment les maladies coronaires (Daviglus et al., 1997, Hu et al., 2002, Kris-Etherton et al., 2002) et les accidents vasculaires cérébraux (He et al., 2004).

Les apports d'EPA et de DHA seraient les éléments déterminants des mécanismes impliqués dans ces effets protecteurs. Ils contribueraient à réduire l'arythmie et la thrombose (Kinsella et al., 1990), le taux de triglycérides plasmatiques (Harris, 1997) et la coagulation du sang (Mori et al., 1997) bien que toutes les études ne concordent pas. Par ailleurs, l'EPA et le DHA ont des effets vasodilatateurs (directs et indirects) et réduiraient la prolifération des cellules musculaires lisses lors de la formation de l'athérome dans le processus d'athérosclérose (Das, 2000). Ces acides gras réduiraient également la synthèse des cytokines pro-inflammatoires impliquées dans les dysfonctionnements du myocarde (Das, 2000) et stimulant la production de radicaux libres (Valko et al., 2007).

Oméga 3 et troubles de l'humeur:

D'autres études d'observation ont rapporté une association négative souvent dose-dépendante entre la consommation de poissons, l'apport d'EPA et/ou de DHA, et les troubles de l'humeur, qu'il s'agisse de symptômes dépressifs (Hibbeln, 1998, Timonen et al., 2004) ou de troubles du spectre bipolaire (Noaghiul and Hibbeln, 2003), mais pas avec la schizophrénie. Cependant, les mécanismes par lesquels l'EPA et le DHA agiraient sur les troubles de l'humeur sont peu connus. La dépression est souvent accompagnée d'un stress oxydant accru, marqué par une augmentation de la concentration de marqueurs de peroxydation lipidique, une baisse de la teneur sanguine en vitamine E et une induction des enzymes antioxydantes, ce qui pourrait expliquer les plus faibles concentrations tissulaires en EPA+DHA. Néanmoins, la baisse d'appétit qui accompagne souvent la dépression pourrait aussi contribuer à cette baisse de concentration. Plusieurs études d'intervention ont montré que l'EPA ou des mélanges EPA+DHA, apportés à des doses relativement élevées (jusqu'à 9 g d'EPA+DHA), pouvaient avoir un rôle dans la prévention de certains de ces troubles (Stoll et al., 1999, Jazayeri et al., 2008, Mischoulon et al., 2009), même si toutes ne convergent pas (Carney et al., 2009). Un faible statut en AGPI-LC n-3 pourrait induire ces troubles de l'humeur. Il a en effet été montré chez l'animal qu'un déficit d'apport en AGPI n-3 perturbait le fonctionnement synaptique des systèmes monoaminergique, cholinergique et sérotoninergique, en particulier l'exocytose des neurotransmetteurs (Zimmer et al., 2000, Kudas et al., 2004).

Un effet bénéfique des AGPI-LC n-3 sur le développement et le fonctionnement du système nerveux central a aussi été montré chez l'homme (Antalis et al., 2006), ainsi que sur les pathologies neurodégénératives (Mazza et al., 2007) ou encore ophtalmiques (Desmettre and Rouland, 2005), et la dépression (Hibbeln and Salem, 1995). Là encore, les mécanismes d'action de l'EPA et du DHA sur les fonctions cérébrales sont encore peu connus. Néanmoins, une revue des effets bénéfiques des AGPI-LC n-3 suggère que l'un des mécanismes par lequel ces acides gras protègent contre les pathologies du système nerveux central est l'inhibition de la production des cytokines pro-inflammatoires qui semblent être neurotoxiques en plus de leur effet cardiotoxique (Das, 2000).

Oméga 3 et cancers

Il a été suggéré que l'association négative observée dans certaines études entre la consommation de poisson et l'apparition de certains cancers (Hirose et al., 2003, Norat et al., 2005, Hughes et al., 2009) était liée aux apports en AGPI n-3, notamment les cancers du sein, du colon, et de la prostate. Cet effet bénéfique s'expliquerait par une action anti-angiogénique de l'EPA et du DHA (Spencer et al., 2009). Ils contribueraient à réduire la production de facteurs angiogéniques, et donc empêcheraient l'angiogenèse (fabrication des vaisseaux sanguins irriguant les tumeurs cancéreuses).

9.2 Annexe 2. L'approche benchmark dose

En évaluation des risques, les expositions alimentaires sont classiquement comparées aux valeurs toxicologiques de références. Ces valeurs sont déterminées à partir d'une dose sans effet observée chez l'animal (parfois chez l'homme) à laquelle sont appliqués des facteurs d'incertitude. Cette démarche sous-entend qu'il existe une dose minimale en-dessous de laquelle l'agent étudié n'a pas d'effet sur la santé.

L'approche *benchmark dose* est une alternative à la dose sans effet, et s'applique pour les contaminants pour lesquels on observe des effets à très faible dose.

A partir d'une ou plusieurs études chez l'homme ou l'animal, la relation dose-réponse entre le contaminant d'intérêt et l'effet critique retenu est modélisée (Figure 13).

Un niveau de réponse (*Benchmark response* ou BMR) est fixé *a priori*. Il est généralement fixé à 1, 5 ou 10 % de l'effet critique retenu ; on parle de BMR₁, BMR₅ ou BMR₁₀.

La *benchmark dose* (BMD) est la dose correspondant à ce niveau de réponse, calculée à partir de la relation dose-réponse.

La *Benchmark dose lower confidence limit* (BMDL) correspond à la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la BMD.

Si les données sont jugées insuffisantes pour déterminer une VTR à partir de la BMDL, les marges d'exposition (*margin of exposure*, MOE) sont alors calculées pour la population. Elles correspondent au ratio entre la BMDL et l'exposition (moyenne ou percentile élevé).

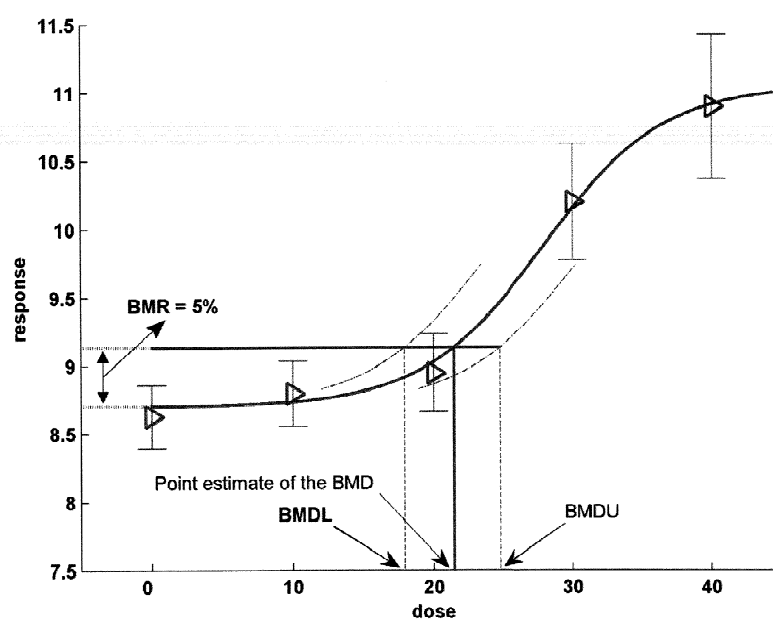


Figure 13. Détermination de la Benchmark dose lower confidence limit (BMDL) à partir d'une courbe dose-réponse

9.3 Annexe 3. Comparaison de la part dans la consommation de produits de la mer, pour les espèces communes à l'étude Calipso et l'étude INCA2

Espèce	Part dans la consommation INCA2 (%)	Part dans la consommation Calipso (%)	z	P
Anchois cru	0,5	0,7	-0,883	>0,05
Anchois mariné	2,1	2,7	-1,424	>0,05
Anguille	0,1	0,3	-1,813	>0,05
Bar ou loup commun	1,1	2	-2,637	0,01
Bigorneau	0,1	0,5	-1,891	>0,05
Bulot ou buccin	0,2	1,6	-4,471	<0,001
Cabillaud ou morue	9,3	10,3	-1,244	>0,05
Calmar ou calamar	1,4	1,8	-1,117	>0,05
Carrelet ou plie	0,2	1,3	-3,753	<0,001
Coquille Saint-Jacques noix et corail	3,8	4,3	-0,845	>0,05
Crabe ou tourteau	1,6	1,5	0,087	>0,05
Crevette	7	4,4	4,922	<0,001
Dorade ou daurade grise	2	2,8	-1,697	>0,05
Espadon	0,4	0,7	-1,668	>0,05
Flétan	0,4	1,3	-2,853	<0,01
Haddock ou églefin fumé	0,1	0,2	-0,320	>0,05
Hareng	1,4	1,9	-1,257	>0,05
Homard	0	0,5	-2,678	0,01
Huître creuse	3,4	3,8	-0,656	>0,05
Julienne ou lingue	1,5	2,2	-1,819	>0,05
Lieu ou colin noir	6,3	6,2	0,106	>0,05
Limande-sole	0,4	1,6	-3,643	<0,001
Lotte ou baudroie	0,8	1,9	-2,971	<0,01
Maquereau	3,9	4,7	-1,509	>0,05
Merlan	2,5	2,9	-0,924	>0,05
Merlu	2,6	2,8	-0,627	>0,05
Moule	3,3	2,5	2,066	<0,01
Raie	3	3	-0,090	>0,05
Rascasse	0,2	0,4	-0,992	>0,05
Rouget	0,8	1,2	-1,532	>0,05
Roussette ou saumonette	0,8	1	-1,076	>0,05
Sardine	4,4	3,9	1,028	>0,05
Saumon	10,8	10	0,982	>0,05
Seiche	0,1	0,8	-2,955	<0,01
Sole	4,3	4,6	-0,597	>0,05
Thon en conserve	11,4	4,9	11,884	<0,001
Thon	2,8	3,2	-0,987	>0,05
Eglefin cuit	0,4	0,8	-1,532	>0,05

9.4 Annexe 4. Application des équations de Ginsberg et Toal (2009) à la consommation optimale de produits de la mer

Ginsberg et Toal ont évalué le modélisé le risque et le bénéfice cardiovasculaire et neurosensoriel de la consommation d'une ou plusieurs portions de poisson, à partir de relations doses-réponses de la littérature (Ginsberg and Toal, 2009).

- Maladies coronaires chez l'adulte :

$$\frac{\text{Risque net}}{\text{Bénéfice net}} = \frac{[(\text{omega-3 mg/repas}) \times (\text{nb repas/sem}) \times (1 \text{ sem}/7 \text{ jours}) \times (14.6\% \text{ réduction du risque}/100 \text{ mg omega-3})] - [((\text{modification de Hg capillaire/repas de poisson}) \times (\text{nb repas/sem})) - (0.51 \text{ ppm Hg capillaire})) \times (23\% \text{ augmentation du risque}/1 \text{ ppm Hg capillaire})]}{}$$

- Développement neurosensoriel chez l'enfant :

$$\frac{\text{Risque net}}{\text{Bénéfice net}} = \frac{[(\text{omega-3 mg/repas}) \times (\text{nb repas/sem}) \times (1 \text{ sem}/7 \text{ jours}) \times (2 \text{ points VRM} / 100 \text{ mg omega-3})] - [((\text{modification de Hg capillaire/repas de poisson}) \times (\text{nb repas/sem})) \times (7.5 \text{ VRM points}/1 \text{ ppm Hg capillaire})]}{}$$

où VRM = *visual recognition memory* (test de mémorisation visuelle).

Ces équations ont été appliquées aux apports en EPA+DHA et à l'exposition en méthylmercure correspondant aux scenarii 1 et 2 de l'étude 5, c'est-à-dire au régime total incluant la consommation optimale de produits de la mer retenue (Tableau 29). Selon Ginsberg et Toal (2009), un ratio supérieur à 1 indique que le bénéfice est supérieur au risque.

Il a été considéré que la consommation de produits de la mer représentait le seul apport alimentaire en méthylmercure (JECFA, 2010a). La concentration en méthylmercure sanguin a été calculée à partir du modèle pharmacocinétique mono-compartmental du JECFA. La concentration en mercure capillaire a été considérée comme égale à la concentration en méthylmercure capillaire, elle-même calculée en appliquant un ratio de 1/250 à la concentration capillaire.

La concentration en méthylmercure capillaire et l'apport d'EPA+DHA correspondant au régime total journalier (et non par repas), ont directement été utilisés dans les équations.

Tableau 29. Application des équations risques/bénéfices de Ginsberg et Toal (2009) aux apports en EPA+DHA et à l'exposition en méthylmercure des scenarii 1 et 2

Scenarii	MeHg ingéré, µg/kg pc/sem	MeHg sanguin, µg/L	MeHg capillaire, mg/kg	EPA+DHA ingéré, mg/lj	Ratio risque-bénéfice	
					Cardiovasculaire	Neurosensoriel
1*	0,49	2,64	0,66	1038	1,48	15,8
1**	0,48	2,59	0,65	986	1,41	14,9
1***	0,54	2,91	0,73	997	1,41	14,5
2	0,31	1,67	0,42	945	1,40	17,6

MeHg : méthylmercure ; *sans la contrainte de consommation maximale de 200 g de poissons gras par semaine ; **avec la contrainte de consommation maximale de 200 g de poissons gras par semaine, minimisation de l'exposition à l'arsenic inorganique ; ***avec la contrainte de consommation maximale de 200 g de poissons gras par semaine, maximisation de l'apport de vitamine D.

9.5 Annexe 5. Publications scientifiques



Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France[☆]

CALIPSO study

Véronique Sirot^{a,*}, Thierry Guérin^a, Yves Mauras^b, Hervé Garraud^c,
Jean-Luc Volatier^a, Jean-Charles Leblanc^a

^aAgence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) (French Food Safety Agency), 27-31 avenue du Général Leclerc,
94701 Maisons Alfort cedex, France

^bLaboratoire de Pharmacologie et de Toxicologie, Centre Médical Universitaire d'Angers, Angers, France

^cUT2A, Pau, France

Received 2 January 2007; received in revised form 30 November 2007; accepted 12 December 2007

Available online 7 February 2008

Abstract

Background: Seafood is considered by toxicologists as the main source of methylmercury (MeHg), but little data is available concerning contamination of seafood and MeHg status of French frequent consumers.

Objectives: The objectives were to assess food exposure and biomarker of exposure of MeHg from a group of frequent consumers of seafood.

Methods: Two approaches to exposure assessment were used: the currently used food intake and the biomarker of exposure. A validated food frequency questionnaire (FFQ) was used to assess seafood consumptions for 80 products of 385 frequent consumers aged 18 and over in four French coastal areas. Seafood samples were collected in each region considering preservation methods and supply habits according to a total diet study sampling. Food samples were analyzed for MeHg. Exposure was assessed by combining consumptions with contamination data. Whole blood samples were collected from the volunteers and analyzed for MeHg.

Results: The mean dietary exposure to MeHg or weekly intake (WI_{FFQ}) was $1.51 \pm 1.17 \mu\text{g/kg bw/wk}$. Thirty-five percent of the subjects exceed the Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) provisional tolerable weekly intake (PTWI), whereas the use of the biological results with the JECFA/Environmental Protection Agency (EPA) one-compartment pharmacokinetic model to calculate weekly intake (WI_{PKM}) shows that only 2% of subjects exceed the PTWI. The mean of the individual ratios WI_{FFQ}/WI_{PKM} is 4.3 and the higher the WI_{FFQ} and the blood MeHg level, the lower is the ratio, close to 1–2.

Conclusions: These analyses support the assumption that the calculated dose of methylmercury is overestimated with the FFQ-based method used in this study. Since FFQ are commonly used in risk assessments, the overestimate of dose is public health protective and this finding is somewhat reassuring from a public health point of view, especially since the JECFA or EPA have applied uncertainty factors of 3.2 or 3, respectively, to take into account the inter-individual pharmacokinetic variability.

© 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Methylmercury; Food intake; Seafood; Exposure; Blood biomarker

Abbreviations: AFSSA, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (French Food Safety Agency); BMDL, benchmark dose limit; CI, confidence interval; CRM, certified reference material; FFQ, food frequency questionnaire; FSA, Food Standard Agency; Hg_T , total mercury; ICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometry; IQC, internal quality control; INSEE, Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques (National Institute for Statistics and Economic Studies); JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; MeHg, methylmercury; NHANES, National Health and Nutrition Examination Survey; NOAEL, no-observed adverse effect limit; NRC, National Research Council; PTWI, provisional tolerable weekly intake; RfD, reference dose; TDS, total diet study.

[☆]The study protocol was approved in July 2004 by French consultative committee for protection of humans in biomedical research.

*Corresponding author. Fax: +33 1 49 77 38 92.

E-mail address: v.sirota@afssa.fr (V. Sirot).

1. Introduction

Ninety-nine percent of the methylmercury (MeHg) absorbed by the population comes from food (WHO, 1990). The major source of intakes for humans is fish (JECFA, 2004). Metallic mercury (Hg) is transformed into organic Hg by bacterial microflora which makes it bioavailable and explains its marked ability to cumulate in shellfish and predator fish near the top of the trophic chain. Following ingestion, MeHg is rapidly absorbed in the digestive tract and 90% is found in the blood. In humans and animals, the brain is the main organ targeted by MeHg. This neurotoxicity appears in the adult brain but even more so in the developing brain. Moreover, MeHg diffuses easily through the placenta and is also found in human milk. The neurotoxic effects observed in adults and animals after exposure to high MeHg levels (concentrations > 100 mg/kg in human hair) are sensorial, visual, auditory, and motor deficiencies. On the other hand, in humans, the effects of exposure to low doses of MeHg are more difficult to identify. In adults, epidemiological studies in Amazonia have revealed the presence of alterations of visual, somatosensorial, and motor functions, and of memory, attention, learning ability, and manual dexterity in people whose hair Hg level is 6 mg/kg or more (Dolbec et al., 2000; JECFA, 2004; Lebel et al., 1996, 1998; EPA, 2001a).

Blood and hair are good markers of MeHg exposure, in particular in conditions of uniform dietary regime, and these concentrations are linked to those of MeHg in the brain, which enables a good estimation of the effects of Hg on health and the central nervous system (JECFA, 2000). Nevertheless, the authors underline that the measured levels do not enable confirmation of a dose–response effect, since the concentrations measured in the biological matrices at the time of the study do not necessarily correspond to the earlier exposures that caused the observed adverse effects (JECFA, 2004).

In children, the main prospective epidemiological studies carried out in New Zealand and the Faeroe Islands point to a correlation between dietary exposure to MeHg during pregnancy and the appearance of neurological symptoms in children (Murata et al., 1999). MeHg also appears to be able to affect the immune system of adults and the developing immune system (Ilback, 1991; Ilback et al., 1991; Wild et al., 1997).

In 2003, the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) established a new provisional tolerable weekly intake (PTWI) of 1.6 µg/kg bw (kilograms of body weight) (JECFA, 2004). This intake corresponds to a steady-state concentration in the mother's blood of 56 µg Hg/L assessed from a no-observed adverse effect limit (NOAEL) for hair of 14 mg/kg (average from the Seychelles and Faeroe Islands studies, taking a hair/blood ratio of 250 into account) that does not have any appreciable adverse effects on the fetus. This PTWI takes uncertainty factors into account: 2 for the variability between individuals of the relationship between the MeHg

concentration measured in hair and that measured in the blood, and 3.2 for the inter-individual variability (pharmacokinetic component) of the relationship between the dietary intake of MeHg and the blood concentration.

In 2001, the US Environmental Protection Agency (EPA) derived a reference dose value (RfD) for MeHg of 0.1 µg/kg bw/day (i.e. 0.7 µg/kg bw/wk) based on an analysis by the National Research Council (NRC) of the studies from the Seychelles Islands, the Faeroe Islands, and New Zealand. This RfD was derived from a benchmark dose limit (BMDL) range of 46–79 µg Hg/L in maternal blood or cord blood for different neuropsychological effects in the offspring at 7 years of age, corresponding to a range of maternal daily intakes of 0.86–1.47 µg/kg bw (EPA, 2001b; Budtz-Jørgensen et al., 1999; Grandjean et al., 1997). The EPA used the same hair/blood ratio of 250 as the JECFA to convert maternal hair to maternal blood level, the same one-compartment pharmacokinetic model with a starting point slightly different from the JECFA one and an uncertainty factor of 10, slightly higher than the factor of 6.4 used by the JECFA. EPA also assumed that the ratio of MeHg in fetal cord blood compared to maternal blood was 1:1.

These differences explain why the intake recommended by the JECFA (1.6 µg/kg bw/wk = 0.23 µg/kg bw/day) is slightly higher than the one recommended by the US EPA (0.7 µg/kg bw/wk = 0.1 µg/kg bw/day). In 2006, at the request of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants of April 2005 (CCFAC, 2005), the JECFA asked if the PTWI should be used as a reference toxicological value for the general adult population or if a different PTWI should be defined for target populations. The Committee confirmed the existing PTWI of 1.6 µg/kg bw, based on the most sensitive toxicological endpoint in humans and noted “that life-stages other than the embryo and fetus may be less sensitive to the adverse effects of MeHg (JECFA, 2006). In the case of adults, the Committee considered that intakes of up to about two times higher than the existing PTWI of 1.6 µg/kg bw would not pose any risk of neurotoxicity in adults, although in the case of women of childbearing age, it should be borne in mind that intake should not exceed the PTWI, in order to protect the embryo and fetus”. The Food Standard Agency (FSA) stated that there has been no new published information suggesting that the previous PTWI of 3.3 µg/kg bw/wk (2000) was not sufficiently protective for the general population (FSA, 2004).

In France, the AFSSA is in charge of putting forward scientific opinions coming from the independent and collegial expert advisory committees in order to answer to the questions coming from the French risk manager authorities. The latest AFSSA's scientific opinion dealing with risk assessment of MeHg to date confirmed the validity of the JECFA's PTWI for the most sensitive population groups: pregnant and breast-feeding women, and young children (AFSSA, 2004). It also confirms that exposure values close to or greater than the PTWI of 1.6 µg/kg bw/wk can be reached by certain categories of

high or frequent fish and seafood consumers, and notably very young infants and women of childbearing age (AFSSA, 2002; Crépet et al., 2005). Considering this evaluation, it was decided to implement a specific study on French frequent seafood consumers. This study took into account new scientific data (not available for France) on food behavior of frequent consumers, on MeHg contamination levels of fish species consumed, on MeHg biological levels in the same populations. The aim was to better estimate the exposure and characterize the risk for the sensitive groups on MeHg and, if need be, to enable the provision of better information—or even better recommendations than those made today (AFSSA, 2006)—on dietary consumption.

2. Subjects and methods

2.1. Subjects and consumption survey

One-thousand eleven frequent seafood consumers (at least two meals a week) aged 18 and over were recruited in four French coastal areas between October and December 2004 (Le Havre in Normandy/Baie-de-Seine, Lorient in South Brittany, La Rochelle in the Gironde/South Charente-Maritime, and Toulon in Mediterranean/Var) within a radius of 20–25 km around these points and the number of individuals questioned within each region was proportional to the number of inhabitants published in the 1999 INSEE survey (INSEE, 1999). About 250 people per study zone were recruited by the “random route” recruitment method, i.e. choosing the first address at random, then by door-to-door canvassing every five doors. The person who was interviewed was the member of the family whose first name was the first in alphabetical order and who was used to consuming seafood. If the person was not at home or did not fulfill the selection criteria, it was the second one and so on. The inclusion criteria were the age (>18), permanent residency in the zone for several years, and the consumption of seafood at least twice a week according to the French recommendations (Ministère Français de l'Emploi et de la Solidarité, Ministère délégué à la Santé, 2001).

Taking into account the particular sensitivity of women of childbearing age concerning the toxicity of MeHg for the fetus, this subgroup was over-represented insofar as when subjects were recruited during the day, the interviewers met mainly housewives or part-time working women which ensures this overestimation. According to the French National Institute for Statistics and Economic Studies (INSEE), 36% of women have an occupation in 2005 and 32% of the active women were part-time working women in 2002 (INSEE, 2006).

Consumptions for 80 types of seafood were assessed via a food frequency questionnaire (FFQ) first validated in 2003 by a pilot survey conducted in two coastal regions, La Rochelle and Toulon, and involving 61 people aged 15 or over. Consumptions were recorded using a 7-day consumption diary and using the FFQ, which was then corrected for the full-scale survey using comparisons between both methods. The methodology of the consumption survey has already been described elsewhere (Bemrah-Aouachria et al., submitted for publication).

2.2. Food sampling

To estimate the weekly intake of MeHg, a local sampling covering mainly consumed fish and seafood was performed (88–100% of the total consumption) between January and April 2005, based on the standardized methodology recommended by the WHO (US FDA/WHO, 1999; ANFZA/WHO/FAO, 2002; INRA/WHO, 2004) and developed in the total diet study (TDS) of the French population (Leblanc et al., 2005). One hundred fifty-nine composite samples were analyzed (fresh and frozen fish, mollusk, crustaceans, and canned products, smoked fish, and prepared seafood-based

dishes). Each sample collected consisted of a number of individual species that were bulked to provide a sample representative of the provisioning methods in each studied zone. This sampling took account of the place of purchase, the consumption frequency, and quantity consumed, the form of preservation (fresh, frozen, canned, etc.), and the market shares of the different brands, based on the purchasing data of households in the Secodip panel of 2001 (Secodip, unpublished data). However, the proportion of wild fish and farmed fish was not distinguished and foodstuffs were not cooked “as-consumed”. The methodology of sampling has been described in detail elsewhere (Leblanc, 2006; Sirot et al., 2008).

2.3. Sample preparation and analysis

Samples were prepared in compliance with the EN 13804:2002 standard. Edible tissue was removed and the combined portions constituting each sample were then homogenized using a K55 Dito cutter/mixer. The process was repeated for each bulked sample and then samples were freeze-dried for 48 h, ground, and refrozen at -20°C until analysis. Edible tissue from at least five individual samples was combined to form a bulk sample. The sample contents were removed and, where excess storage medium, oil or saline solution was found, this was discarded if not considered part of the edible content. All details have been described elsewhere (Leblanc, 2006; Sirot et al., 2008). The whole net weight and sample weight were recorded.

Dry samples weighing 250 mg were prepared and then irradiated for 4 min in an open microwave system at 20 W using a Microdigest Model A301 (Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France). MeHg was measured by capillary gas chromatography (HP 6850 Hewlett-Packard, Wilmington, DE, USA) coupled with ICP-MS (Elan 6000 ICP MS, Perkin-Elmer, France). Quantification was done by isotopic dilution analysis (IDA), recognized to be accurate and precise (Centineo et al., 2004; Monperrus et al., 2005; Rivier et al., 2005). Details of the sample preparation, analytical procedure, and potential and limits of IDA have been detailed earlier (Monperrus et al., 2003, 2004). The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) (0.7 and $2\mu\text{g MeHg/kg}$, respectively) were estimated at 3 and 10 times the standard deviation of the average from the blank samples ($n=21$) after correction of sample weight and dilutions.

For quality control purposes, a sample blank and certified reference material (CRM; DORM 2: dogfish muscle) were included in each batch of samples (EN 13804: 2002). The laboratory reagent blank samples were treated and analyzed using the same method as the real samples, one blank for each series of samples. The blank result was subtracted from the sample measurements. The LOD values were used to identify any cross-contamination or memory effects from sample preparation. An MeHg average concentration of $4.24\pm 0.23\text{ mg Hg/kg}$ (one standard deviation (S.D.), $n=16$) was obtained in DORM-2, in good agreement with the certified value of $4.47\pm 0.32\text{ mg Hg/kg}$ (95% confidence interval). It could be noted that high precision and excellent accuracy of the method on the candidate certified BCR 710 (oyster tissue) have also been evaluated earlier (Monperrus et al., 2003). Some samples were extracted in duplicate and the mean recorded. The relative standard deviation of the parallel samples with concentrations over the LOQ had to be less than the intermediated precision reproducibility estimated ($\text{CV}_R = 5\%$, $n=16$) (Noël et al., 2005). All duplicates were within the confidence interval (CI) ($k=1$) estimated from CV_R . During the determination, spiked sample recoveries and check values (calibration with $r^2 < 0.995$, drift $< 20\%$) were also included. The results of the laboratory spiked control sample were within the 95% confidence interval (spiked value $\pm 2 \times \text{CV}_R$) for the entire sample series.

2.4. Biological MeHg analysis

Whole blood samples were collected in heparin tubes from a subsample of 385 consumers, at the most 1 month after fulfilling the FFQ. Samples were thawed and sonicated for 10 min, and then $250\mu\text{L}$ was sampled for analysis. Fifty microliters of $1\mu\text{g/mL}$ solution of MeHg labeled with Hg-202 and $50\mu\text{L}$ of $0.1\mu\text{g/mL}$ solution of inorganic Hg labeled with Hg-199 were added. Five milliliters of 6 N nitric acid was used to extract MeHg.

The samples were sonicated for 1 h and centrifuged at 3500 rpm for 5 min. The derivatization was done on 3 mL. Thirteen milliliters ultrapure water, 2 mL ammonia, 5 mL acetate buffer at pH = 3.9, 1.5 mL hexane, and 1% sodium boropropylborate solution were added. The organic phase was sampled and measured by gas chromatography coupled with inductively coupled plasma-mass spectrometry (GC conditions: 60 °C 1 min, 60–250 °C to 40 °C/min, 250 °C 1 min). Quantification was also done by IDA (LOD = 0.3 µg/L, LOQ = 1.0 µg/L, $n = 21$). For quality control purposes, a sample blank to check contamination, check values (calibration with $r^2 < 0.995$, drift < 20%), and spiking real samples with MeHg were also included in each batch of samples (EN 13804: 2002), as no CRM was available in blood sample. As for food analysis, the laboratory reagent blank samples were treated and analyzed using the same method as the real samples, one blank for each series of samples. The blank result was subtracted from the sample measurements. The LOD values were also used to identify any cross-contamination or memory effects from sample preparation. Some samples were extracted in duplicate and the mean recorded. The relative standard deviation of the parallel samples with concentrations over the LOQ had to be less than the intermediated precision reproducibility estimated ($CV_R = 37\%$, $n = 12$). All duplicates were within the CI ($k = 1$) estimated from CV_R . The results of the laboratory spiked control sample had to be within the 95% CI (spiked value $\pm 2 \times CV_R$) for the entire sample series to be acceptable. The accuracy was acceptable as the average recovery of added analyte was about 107% ($n = 12$) (Garraud et al., 2007).

2.5. Data and statistical analysis

The average weekly intake (WI_{FFQ}) of MeHg was calculated by combining the 385 individual consumption data from the food consumption survey with the individual contamination data obtained by analysis of the representative food samples in each study zone. The consumption data for the 385 subjects (unpublished data) is similar to the 1011 subjects which have been described elsewhere (Bemrah-Aouachria et al., submitted for publication). Concerning blood, 0.5% of MeHg levels was undetectable ($< LOD$, two values, i.e. 0.5%) and 6.7% were unquantified ($< LOQ$, 26 values, i.e. 6.7%). These levels were taken to be equal to half of these limits. As the distribution was skewed to the right, i.e. the MeHg level was not normally distributed, the data has been transformed to the normal scale using a Box–Cox transformation before performing statistical analysis. Analysis of variance associated with Tukey test has been performed to compare groups.

In the 385 blood samples, the mean total Hg (mean $\pm$ S.D.) estimated by two independent laboratories (3.72 ± 3.15 µg/L, Lab 1 and 3.49 ± 3.75 µg/L, Lab 2) was not statistically different from the one estimated for MeHg (3.74 ± 3.77 µg/L, Lab 2) (Garraud et al., 2007). Considering that 100% of the total Hg found in our study is in the form of MeHg we confronted the MeHg blood data with a model proposed in the bibliography to explain Hg blood concentration with fish intake and vitamin E intake, by calculating Pearson's correlations between the different parameters, to compare both approaches of exposure. Moreover, as described by international scientific bodies such as JECFA, EPA, FDA, NRC and WHO (JECFA, 2004; NAS/NRC, 2000; WHO, 1990), the single-compartment pharmacokinetic model relating the daily intake of MeHg to the concentration in blood has been used to calculate a “steady-state dietary intake”, i.e. a weekly intake (WI_{PKM}) from the biological results in order to compare the two methods of assessment of intake of MeHg, the calculated intake with consumption data (WI_{FFQ}) and the biomarker approach (WI_{PKM}). All statistical analysis was performed using SAS.7.

3. Results

3.1. MeHg contamination of seafood

Table 1 presents the results of the MeHg analysis in fish and other seafood, averaged for the four regions surveyed.

Table 1

Mean contamination by MeHg of fresh, frozen, canned and smoked fish, mollusks and crustaceans, and seafood-based dishes (µg/g fresh weight)

Species	n^a	MeHg	Species	n^a	MeHg
Anchovy	1	0.020	Oyster	4	0.007
Angler fish ^b	4	0.131	Paella	1	0.000
Canned anchovy	2	0.016	Pilchard	1	0.021
Canned crab	1	0.136	Plaice ^b	2	0.059
Canned mackerel	1	0.027	Pollack	3	0.083
Canned sardine	1	0.023	Pout	1	0.158
Canned tuna ^b	5	0.210	Ray ^b	4	0.097
Calico scallop	1	0.007	Saithe/coalfish	4	0.041
Catshark ^b	4	0.232	Salmon	4	0.038
Cockle	2	0.016	Sardine	4	0.099
Cod	4	0.059	Scampi	3	0.087
Common dab	4	0.098	Scorpion fish	1	0.196
Common periwinkle	3	0.009	Seabass ^b	4	0.149
Crab	3	0.175	Sea bream ^b	4	0.098
Cuttle fish	2	0.048	Sea urchin	1	0.003
Eel ^b	1	0.315	Shrimp	4	0.031
Emperor ^b	3	0.574	Smoked haddock	1	0.010
Fish soup	2	0.007	Smoked herring	1	0.037
Goatfish	3	0.130	Smoked mackerel	1	0.042
Great scallop	4	0.034	Smoked salmon	1	0.037
Grenadier/hoki ^b	4	0.112	Sole	4	0.126
Gurnard	1	0.143	Spider crab	1	0.036
Haddock	2	0.102	Squid	4	0.055
Hake	4	0.157	Swimcrab	2	0.069
Halibut ^b	4	0.082	Swordfish ^b	4	0.944
John dory	2	0.092	Surimi	1	0.018
Ling ^b	4	0.305	Tarama	1	0.001
Lobster	1	0.092	Tuna ^b	4	0.330
Mackerel	4	0.072	Whiting	4	0.170
Mussel	4	0.038	Whelk	3	0.034
Octopus	1	0.219			

MeHg, methylmercury.

^aNumber of composite samples, each sample is composed of five subsamples of the same species, representative of the provisioning methods in each zone (port, market, supermarket, etc.).

^b“Predatory fish” as described in the Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of December 19, 2006.

There was no censored data (value below the LOD or LOQ).

Considering that MeHg represents 70–100% of the total Hg in fish depending on species (data not presented), the data expressed in mean concentration of total Hg are consistent with the results of the monitoring plan of the French Ministry of Agriculture and Fisheries (DGAL, 2004–2006), for all species. Predator fish are found to contain significantly the highest levels of MeHg compared with non-predator species (t -test, $p < 0.0001$): swordfish (0.944 µg/g), emperor (0.574 µg/g), tuna (0.330 µg/g), and eel (0.315 µg/g). For these species, MeHg levels did not exceed the maximum authorized limit of 1 mg Hg/kg (Commission Regulation (EC) No. 1881/2006), which is reassuring considering that these results are obtained from composite samples. None of the non-predator species presented a MeHg level exceeding the maximum level of 0.5 mg Hg/kg. Fish with the lowest MeHg levels were anchovy (0.020 µg/g), salmon (0.038 µg/g), and saithe

(0.041 µg/g). Octopus and fresh crab were also the species with the highest MeHg levels (0.219 and 0.175 µg/g, respectively). However, none exceeded the limit fixed at 0.5 µg Hg/g for fish products (excluding predator fish) (EC No. 1881/2006).

3.2. Food exposure or WI_{FFQ}

The data reveals that the average intake of MeHg is 1.33 ± 1.19 µg MeHg/kg bw/wk for adult males and 1.56 ± 1.19 µg MeHg/kg bw/wk for adult females (Table 2). The intake is of the same order for elderly subjects (1.58 ± 0.98 µg MeHg/kg bw/wk) and women of childbearing age, i.e. under 45 years old (1.33 ± 0.92 µg MeHg/kg bw/wk). There is no significant difference between groups. These average intakes are close to or even above the PTWI of 1.6 µg MeHg/kg bw/wk and the EPA RfD. More than a third of the subjects (35%) have an intake exceeding the PTWI. Among these 32% are in Lorient, 31% in La Rochelle, 27% in Toulon, and 10% in Le Havre. A third (32%) are women of childbearing age, considered to be the most sensitive population in view of the neurotoxicological effects on the fetus. The 95th percentile (P95) exposure of women of childbearing age is 2.86 µg/kg bw/wk, or 1.8 times the PTWI. This corresponds to 2.2 times the P95 level of such women surveyed in the general French population according to the results obtained with the consumption data of the INCA survey (AFSSA, 2004).

The products contributing most to MeHg intake, in all the subjects combined, are tuna (19.2%), cod (7.18%), ling, sole, and hake (about 5% each), with little difference from one zone to another. Fish generally accounts for more than 75% of the MeHg intake (Table 3). Consumption of seafood by frequent consumers contributes for 94% of the PTWI. Particularly tuna is the main contributor (on average 18.1% of the PTWI).

3.3. Blood level

Fig. 1 shows the distribution of the MeHg levels in the whole blood of the 385 volunteers. Table 2 also shows the

MeHg blood concentrations. Unlike the external exposure results obtained by combining food contamination and individual consumption data, the results of the biomarker approach yield the exposure resulting from the total diet but fish is known to be the major source of MeHg through food.

In all the zones, women of childbearing age is the group with the lowest MeHg blood level (2.29–3.37 µg/L, depending on the zone, not presented). Elderly subjects constitute the group with the significantly highest level with 4.85 ± 3.15 µg MeHg/L ($p < 0.05$).

4. Discussion

4.1. Food exposure or WI_{FFQ}

International scientific literature often indicates that very few consumers exceed the PTWI. However, the calculations are often made for populations that are not high fish consumers, and the studies often concern only a small number of products (<30, versus 84 in our study). In 1995, Buzina et al. reported, for Adriatic populations consuming fish and seafood 2–6 times per week, exposures ranging from 132 to 294 µg Hg/wk on average (Buzina et al., 1995), or 1.9–4.2 µg Hg/kg bw/wk for individuals of 70 kg aged 15–59 years, which is of the same order of magnitude as the results for MeHg in our study.

4.2. Blood level and WI_{PKM}

The blood analysis results are consistent with the results of the Bjornberg study concerning Swedish women of childbearing age and who are high fish consumers (Bjornberg et al., 2005). Such women in our study have an average MeHg level in the blood of 2.68 ± 1.99 µg/L, with a median for all zones combined of 2.39 µg/L. The Swedish study indicates a median value of 1.7 µg/L for these high seafood consumers. For comparison, the NHANES study indicates for the general American population (not frequent consumers) a geometric average

Table 2
Food intake of MeHg and blood MeHg levels of the 385 subjects

	Adult males (18–64 years old)	Adult females (18–64 years old)	Older subjects (65 years old and over)	Women of childbearing age (18–44 years old)	Total
	<i>n</i> = 93	<i>n</i> = 254	<i>n</i> = 38	<i>n</i> = 133	<i>n</i> = 385
MeHg intake (µg/kg bw/wk)					
$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	1.33 ± 1.19^a	1.33 ± 1.19^a	1.58 ± 0.98^a	1.33 ± 0.92	1.51 ± 1.17
P95	2.83	3.86	3.48	2.86	3.52
Blood level (µg/L)					
$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	3.41 ± 2.25^a	3.67 ± 4.26^a	4.85 ± 3.15^b	2.68 ± 1.99	3.72 ± 3.77
P95	7.17	8.63	10.7	5.58	8.65

MeHg, methylmercury.

On the same line, the values with a different index letter are significantly different $p < 0.05$ (Tukey test). All values are $\bar{x} \pm \text{S.D.}$ (all such values).

Table 3
Contributors to the total exposure to MeHg and to the JECFA's PTWI of MeHg of 1.6 µg/kg bw/wk (%)

Species	% contrib.	% PTWI	Species	% contrib.	% PTWI
Anchovy	0.64	0.49	Paella	0.04	0.03
Angler fish ^a	2.34	2.41	Periwinkle	0.05	0.04
Calico scallop	0.09	0.08	Pilchard	0.05	0.03
Catshark ^a	1.80	1.81	Plaice ^a	0.51	0.36
Cockle	0.07	0.07	Pollack	1.14	1.00
Cod	7.18	5.25	Pout	0.36	0.30
Crab	2.08	1.57	Ray ^a	2.68	2.51
Cuttle fish	0.39	0.40	Saithe	3.35	2.39
Dab	1.26	1.26	Salmon	3.85	2.73
Eel ^a	1.02	1.04	Sardine	2.87	2.80
Emperor ^a	1.10	1.84	Scampi	1.85	1.61
Fish soup	0.55	0.40	Scorpion fish	0.68	0.59
Goatfish	1.13	1.44	Sea urchin	0.03	0.05
Great scallop	1.53	1.33	Seabass ^a	3.88	3.80
Grenadier ^a	1.82	1.99	Sea bream ^a	2.45	2.65
Gurnard	0.13	0.18	Shrimp	1.60	1.25
Haddock	0.33	0.44	Sole	5.09	4.76
Hake	5.06	5.65	Spider crab	0.13	0.13
Halibut ^a	0.98	1.03	Squid	1.12	0.83
Herring	0.26	0.20	Surimi	0.82	0.53
John dory	0.27	0.29	Swimcrab	0.47	0.38
Ling	5.29	5.11	Swordfish ^a	3.79	5.91
Lobster	0.22	0.21	Tarama	0.01	0.01
Mackerel	1.97	1.63	Tuna ^a	19.2	18.1
Mussel	1.17	0.89	Whelk	0.63	0.41
Octopus	0.51	0.54	Whiting	3.79	3.46
Oyster	0.33	0.25			

MeHg, methylmercury; PTWI, provisional tolerable weekly intake; contrib., contribution to the total exposure.

^aPredatory fish as described in the Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of December 19, 2006.

of 1.02 µg/L for women aged 16–49 years (Schober et al., 2003).

The blood analyses results are reassuring. As described in Introduction section, the PTWI of 1.6 µg/kg bw/wk established by the JECFA or the RfD of 0.7 µg/kg bw/wk established by EPA were both calculated from an average concentration of Hg in the mothers hair or an average concentration of Hg in the mothers blood: a NOAEL of 56 µg/L and a BMDL of 46–79 µg/L, respectively. The PTWI includes an uncertainty factor of 2 and the EPA RfD a factor of 3 corresponding to the inter-individual variability of the relation between MeHg concentration in hair and that measured in blood. In fact, even among the very high consumers of seafood, consuming up to 4.5 kg of product per week and with intakes calculated from these high consumptions of as much as 9.6 µg/kg bw/wk, our results show MeHg blood levels well below the value of 56 µg/L, and below the range of 46–79 µg/L. Only one subject exceeds the lowest NOAEL or BMDL with a concentration of 57 µg/L. This high level can partly be explained by this person's use of a medication affecting

renal and hepatic functions. Apart from this subject, the maximum MeHg blood level is 17 µg/L.

4.3. Linking both exposure assessment approaches and characterization of the risk

The MeHg measured in the blood correlates significantly with the quantity of MeHg ingested from fish and seafood ($r = 0.36$, $p < 0.0001$). This conclusion is borne out by the fact that the quantity of predator fish consumed correlates positively with the MeHg measured in the blood ($r = 0.26$, $p < 0.0001$). Furthermore, the MeHg level in the blood also correlates significantly with the ages of the subjects ($r = 0.25$, $p < 0.0001$). One should bear in mind that the studied population is relatively homogeneous (only frequent consumers), i.e. the range of consumption and exposure levels is limited, so the correlation coefficient was naturally low. Besides, it appeared very difficult to find a mathematical model linking Hg or MeHg in blood and indirect exposure or fish intake. Sanzo et al. in 2001 proposed such a model explaining mercury concentration in red blood cells with fish intake and vitamin E intake (Sanzo et al., 2001). According to our data, vitamin E did not appear to be a significant parameter explaining the MeHg blood concentration (not presented) but the amount of consumed fish does with a Pearson correlation of 0.22 ($p < 0.0001$) as the amount of predatory species consumed ($r = 0.20$, $p = 0.0001$).

Given the fact that blood level data does not indicate that the MeHg threshold of safety is exceeded, whereas the WI_{FFQ} indicates that a third of the subjects exceed the recommended PTWI for MeHg, we favor the biomarker results and the pharmacokinetic model used by the JECFA and EPA to characterize the risk associated with exposure to MeHg.

The use of biomarker data to estimate WI_{PKM} requires that the MeHg concentrations in the blood of our population be effectively in a steady state, which we believe to be the case in view of the recruitment criteria and the homogeneous dietary habits stable over time. By combining the consumption and contamination data, the average WI_{FFQ} is 1.61 ± 1.28 µg MeHg/kg bw/wk for the general population excluding women of childbearing age, and for such women an average intake of 1.33 ± 0.92 µg/kg bw/wk (Table 4). The use of blood concentrations and the pharmacokinetic model indicate for the general population, excluding women of childbearing age, an average WI_{PKM} of 0.65 ± 0.64 µg/kg bw/wk, and for women of childbearing age, the subjects most "at risk", an average WI_{PKM} of 0.39 ± 0.29 µg/kg bw/wk. These average WI_{PKM} can be directly compared with the PTWI and the EPA RfD even if both health-based guidelines take into account an uncertainty factor of 3.2 and 3, respectively, for the inter-individual variability or pharmacokinetic component of the relationship between the dietary intake of MeHg and blood concentration. Applying the model at an individual level, this variability is clearly not integrated, but in view of the

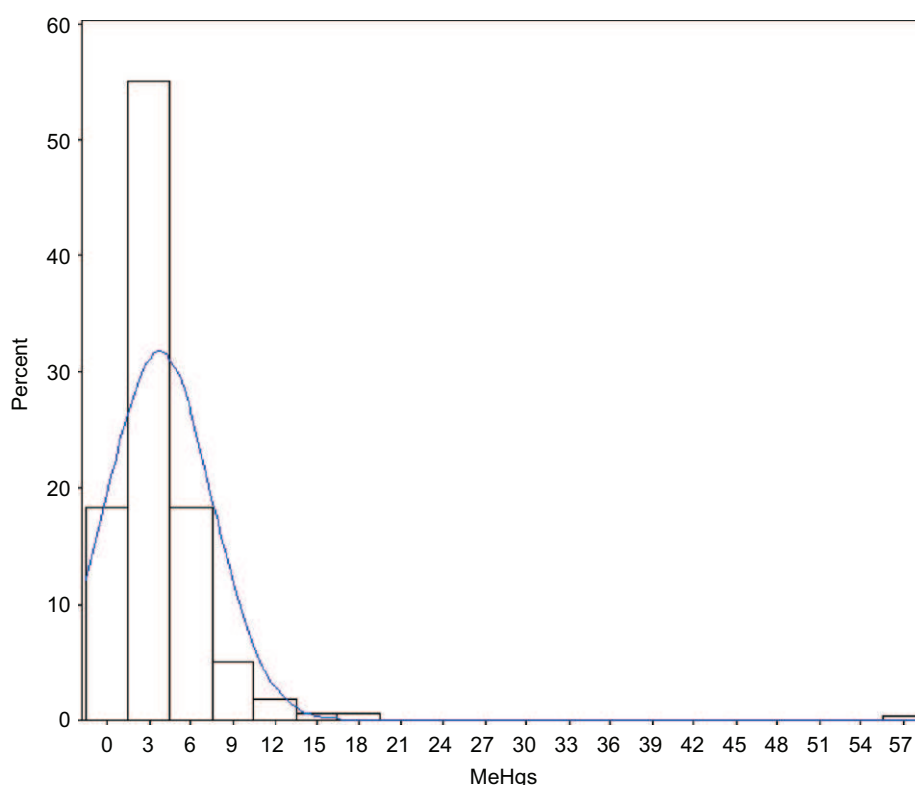


Fig. 1. Distribution (%) of the MeHg level in blood (MeHgs) in µg/L compared with a normal distribution.

Table 4
Modeling of MeHg intake at the steady state, and quantification of the probability of exceeding the PTWI of 1.6 µg/kg bw/wk

	WI _{FFQ} (µg/kg bw/wk)			Blood levels (µg/L)		WI _{PKM} (µg/kg bw/wk)	
	$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	P95	% ^a	$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	P95	$\bar{x} \pm \text{S.D.}$	P95
General population ^b , $n = 253$	1.61 ± 1.28	3.87	37	4.27 ± 4.34	9.91	0.65 ± 0.64	1.49
Women of childbearing age (18–44 years old), $n = 132$	1.33 ± 0.92	2.87	32	2.70 ± 2.00	5.61	0.39 ± 0.29	0.85

MeHg, methylmercury; WI_{FFQ}, weekly intake calculated by combining consumption data with contamination data; WI_{PKM}, weekly intake calculated using the pharmacokinetic model; PTWI, provisional tolerable weekly intake; bw, body weight.

^a% of subjects whose intake exceeds the PTWI of 1.6 µg/kg bw/wk.

^bIncluding all men aged 18 years and over and all women aged 45 years and over.

size of the population ($n = 385$), this variability can be ignored for the average of the population. The average WI_{PKM} of MeHg of 0.39 ± 0.29 µg/kg bw/wk estimated for women of childbearing age, and of 0.65 ± 0.64 µg/kg bw/wk estimated for the general population are lower than half the estimated WI_{FFQ}. These means are both under the JECFA PTWI and the EPA RfD. As explained earlier, the main difference between the JECFA PTWI and the EPA RfD comes from the choice of the uncertainty factors which are slightly higher in the EPA assessment (EPA, 2001b; Rice, 2004). Concerning the inter-individual variability of the relationship between hair Hg and blood Hg, the ratio of the overall average to the highest mean found was 1.5 (370/250) and the ratio to the highest individual value was 2.3 (585/250). The JECFA decided for an average of 2, and

the EPA for a higher value of 3. Concerning the pharmacokinetic variability, the JECFA used a value of 3.2 and the EPA chose a default value of 3. In brief, the JECFA applied an overall uncertainty factor of 6.4 (3.2×2) and the EPA a factor of 10 (combining two factors of 3).

Actually, JECFA and EPA both used the same pharmacokinetic model, the same assumptions for the hair/blood ratio, and a similar starting point for maternal blood concentrations: a NOAEL of 56 µg Hg/L for the JECFA and a range of 46–79 µg Hg/L chosen by the NRC as a critical BMDL corresponding to a critical study (the Faeroe Islands study) and a critical end-point (Boston naming test on the full cohort) (Rice, 2004). For EPA, the corresponding RfD of 0.1 µg/kg bw/day was convenient with the integrative analysis of the three studies (New Zealand, Faeroe Islands,

and Seychelles). For several end-points of these studies, BMD and BMDL were calculated for Hg cord blood and corresponding ingested doses were calculated using the pharmacokinetic model. RfD values were derived using the usually used uncertainty factor of 10. Nevertheless, recent data from 2007 show that Hg concentration measured in cord blood might be higher than in maternal blood (Jedrychowski et al., 2007). This might call the hypothesis of a ratio of MeHg in fetal cord blood/maternal blood of 1:1 into question. And in the future, this might call the EPA and JECFA evaluation into question.

The mean of the individual ratios of WI_{FFQ} to WI_{PKM} is 4.3, with a minimum of 0.2 and a P95 of 14. The higher the WI_{FFQ} and the blood MeHg level, the lower is the ratio, close to 1–2. To explain this, it is possible that the consumptions declared on the FFQ by the highest consumers (the people most exposed) are closer to reality and overestimate the real consumptions less than the declared consumptions of less frequent consumers.

Another hypothesis is possible when the consumption overestimation on the FFQ is the same for all consumers: the absorption of MeHg, its distribution in the blood, and its excretion are perhaps dependent on the quantity ingested. This point is interesting to underline as the linearity of absorption has never been demonstrated. In this case, the model describing the steady state would be more suitable for high consumptions and high exposures than low consumptions.

These analyses support the assumption that the consumptions and the calculated dose of methylmercury are overestimated with the FFQ-based method used. Since FFQs are commonly used in risk assessments, the overestimate of dose is public health protective and this finding is somewhat reassuring from a public health point of view, especially since the JECFA or EPA have respectively applied uncertainty factors of 3.2 or 3 on high intake calculated on the basis of high methylmercury blood dose, to take into account the inter-individual pharmacokinetic variability.

Acknowledgments

The authors would like to thank the General Directorate for Foods of the French Ministry of Agriculture and Fisheries for its financial support and also express their particular gratitude to all the participants in the CALIPSO survey. Thanks are also due to A. Le Bouil and C. Benoit Bonnemaïson for addressing help in performing sample and blood analysis, and to N. Flavigny and P. Verger for help brought in the administrative management of the CALIPSO study.

References

AFSSA, 2002. Avis de l'AFSSA relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés à l'exposition au mercure des femmes enceintes et allaitantes et des jeunes enfants (in French).

- AFSSA, 2004. Avis de l'AFSSA relatif à la réévaluation des risques sanitaires du méthylmercure liés à la consommation des produits de la pêche au regard de la nouvelle dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) (in French).
- AFSSA, 2006. Avis de l'AFSSA relatif à la consommation des poissons prédateurs pélagiques, en particulier l'espadon, à la Réunion vis-à-vis du risque sanitaire lié au méthylmercure (in French).
- ANFZA/WHO/FAO, 2002. Total Diet Studies (TDS). Consultation ANFZA/WHO/FAO, Brisbane, Australia.
- Bjornberg, K.A., Vahter, M., Grawe, K.P., Berglund, M., 2005. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Sci. Total Environ.* 341 (1–3), 45–52.
- Budtz-Jørgensen, E., Keiding, N., Grandjean, P., White, R.F., 1999. Methylmercury neurotoxicity independent of PCB exposure (letter). *Environ. Health Perspect.* 107 (5), A236–A237.
- Buzina, R., Stegnar, P., Buzina-Suboticanc, K., Horvat, M., Petric, I., Farley, T.M.M., 1995. Dietary mercury intake and human exposure in an Adriatic population. *Sci. Total Environ.* 70, 199–208.
- CCFAC, 2005. In: Proceedings of the 37th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, April 2005, The Hague.
- Centineo, G., Rodriguez-Gonzalez, P., Gonzalez, E.B., Garcia Alonso, J.I., Sanz-Medel, A., 2004. Simultaneous determination of mono-, di- and tributyltin in environmental samples using isotope dilution gas chromatography mass spectrometry. *J. Mass. Spectrom.* 39 (5), 485–494.
- Commission Regulation, 2006. Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 amending Regulation (EC) No. 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards heavy metals.
- Crépet, A., Tressou, J., Verger, P., Leblanc, J.C., 2005. Management options to reduce exposure to methylmercury through the consumption of fish and fishery products by the French population. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 42, 179–189.
- DGAL (Direction Générale de l'Alimentation), 2004–2006. Résultats des plans de surveillance sur les produits de la mer de 1999 à 2006 (in French).
- Dolbec, J., Mergler, D., Sousa Passos, C.J., Sousa de Morais, S., Lebel, J., 2000. Methylmercury exposure affects motor performance of a riverine population of the Tapajos River, Brazilian Amazon. *Int. Arch. Occup. Health* 73 (3), 195–203.
- EPA, 2001a. Water Quality Criterion for the Protection of Human Health: Methylmercury, Final. EPA-823-R-01-001. US Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- EPA (Environmental Protection Agency), 2001b. Methylmercury (MeHg) (CASRN 22967-92-6). Available: <<http://www.epa.gov/IRIS/subst/0073.htm>>.
- FSA, 2004. Advice on fish consumption: benefit and risks. Committee on Toxicity and Scientific Advisory Committee on Nutrition, TSO, London.
- Garraud, H., Vacchina, V., Seby, F., Dumont, J., Sirot, V., Guérin, T., Leblanc, J.-C., 2007. Méthodologies analytiques pour la spéciation des métaux dans les produits de la mer dans le cadre d'une approche bénéfice/risque (étude CALIPSO). *Ann. Toxicol. Anal.* XIX (1), 71–80 (in French).
- Grandjean, P., Weihe, P., White, R., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., et al., 1997. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol. Teratol.* 20, 1–12.
- Iiback, N.G., 1991. Effects of methyl mercury exposure on spleen and blood natural killer (NK) cell activity in the mouse. *Toxicology* 67 (1), 117–124.
- Iiback, N.G., Sundberg, J., Oskarsson, A., 1991. Methylmercury exposure via placenta and milk impairs natural killer (NK) cell function in newborn rats. *Toxicol. Lett.* 58 (2), 149–158.
- INRA/WHO, 2004. Total Diet Studies (TDS). Consultation INRA/WHO, Paris, France.
- INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques/National Institute for Statistics and Economic Studies), 1999.

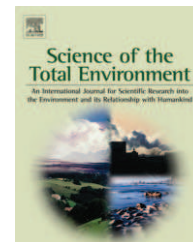
- Résultats du recensement de la population Française, March 1999 (in French). Available: <<http://www.recensement.insee.fr/>> (accessed 1.09.04).
- INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques/ National Institute for Statistics and Economic Studies), 2006. France in facts and figure, labour–employment. Available: <http://www.insee.fr/en/ffc/accueil_ffc.asp?theme=3>.
- JECFA, 2000. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. 53th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series, vol. 44, WHO, Geneva.
- JECFA, 2004. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. 61st Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO, Geneva.
- JECFA, 2006. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. 67th Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO, Rome. Available: <<http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/summary67.pdf>>.
- Jedrychowski, W., Perera, F., Rauh, V., Flak, E., Mroz, E., Pac, A., et al., 2007. Fish intake during pregnancy and mercury level in cord and maternal blood at delivery: an environmental study in Poland. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health* 20 (1), 31–37.
- Lebel, J., Mergler, D., Branches, F., Lucotte, M., Amorim, M., Dolbec, J., et al., 1996. Evidence of early nervous system dysfunction in Amazonian populations exposed to low-levels of methylmercury. *Neurotoxicology* 17, 157–168.
- Lebel, J., Mergler, D., Branches, F., Lucotte, M., Armorin, M., Larribe, F., et al., 1998. Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination of the Amazonian Basin. *Environ. Res.* 79, 20–32.
- Leblanc, J.C. (coordinator), 2006. CALIPSO, fish and seafood consumption study and biomarker of exposure to trace elements, pollutants and omega 3. Available: <<http://www.afssa.fr/ftp/afssa/38719-38720.pdf>>.
- Leblanc, J.C., Tard, A., Volatier, J.L., Verger, P., 2005. Estimated dietary exposure to principal food mycotoxins from the first French total diet study. *Food Addit. Contam.* 22 (7), 652–672.
- Ministère Français de l'Emploi et de la Solidarité, Ministère délégué à la Santé (French Ministry of Employment and Solidarity and the Secretary of State for Health and Social Action), 2001. National Nutritional-Health Programme, 2001–2005. Available: <<http://www.sante.gouv.fr/hm/pointsur/nutrition/1nbis.htm>>.
- Monperrus, M., Martin-Doimeadios, R.C.R., Scancar, J., Amouroux, D., Donard, O.F.X., 2003. Simultaneous sample preparation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis of monomethylmercury and tributyltin in a certified oyster tissue. *Anal. Chem.* 75 (16), 4095–4102.
- Monperrus, M., Krupp, E., Amouroux, D., Donard, O.F.X., Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., 2004. Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for methodology and assessing environmental reactivity. *Trends Anal. Chem.* 23 (3), 261–272.
- Monperrus, M., Tessier, E., Veschambre, S., Amouroux, D., Donard, O.F.X., 2005. Simultaneous speciation of mercury and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 381 (4), 854–862.
- Murata, K., Weilhe, P., Araki, S., Budtz-Jorgensen, E., Grandjean, P., 1999. Evoked potentials in Faroese children prenatally exposed to methylmercury. *Neurotoxicol. Teratol.* 21, 471–472.
- NAS/NRC, 2000. Toxicological Effect of MeHg. National Academy Press, Washington, DC.
- Noël, L., Dufailly, V., Lemahieu, N., Vastel, C., Guérin, T., 2005. Simultaneous analysis of cadmium, lead, mercury and arsenic content in foodstuff of animal origin by ICP-MS after closed vessel microwave digestion: method validation. *J. AOAC Int.* 88 (6), 1811–1821.
- Rice, D.C., 2004. The US EPA reference dose for methylmercury: sources of uncertainty. *Environ. Res.* 95, 406–413.
- Rivier, C., Stumpf, C., Labarraque, G., Hervouët, G., Désenfant, M., Priel, M., et al., 2005. Matériaux de référence et essais d'aptitude: deux outils au service de la qualité des analyses (in French). *Spectra Anal.* 256, 33–35.
- Sanzo, J.M., Dorronsoro, M., Amiano, P., Amurrio, A., Aguinagalde, F.X., Azpuri, M.A., et al., 2001. Estimation and validation of mercury intake associated with fish consumption in an EPIC cohort of Spain. *Public Health Nutr.* 4 (5), 981–988.
- Schober, S.E., Sinks, T.H., Jones, R.L., Bolger, P.M., McDowell, M., Osterloh, J., et al., 2003. Blood mercury levels in US children and women of childbearing age, 1999–2000. *JAMA* 289 (13), 1667–1674.
- Sirot, V., Oseredczuk, M., Bemrah-Aouachria, N., Volatier, J.-L., Leblanc, J.-C., 2008. Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France. *J. Food Comp. Anal.* 21, 8–16.
- US FDA/WHO, 1999. Total Diet Studies (TDS). Consultation US FDA/OMS, Kansas City, MO, USA.
- WHO, ICPS, 1990. Environmental Health Criteria 101, Methylmercury: International Program on Chemical Safety, Geneva.
- Wild, L.G., Ortega, H.G., Lopez, M., Salvaggio, J.E., 1997. The system alteration in the rat after indirect exposure to methyl mercury chloride or methyl mercury sulfide. *Environ. Res.* 74 (1), 34–42.



available at www.sciencedirect.com



www.elsevier.com/locate/scitotenv



Dietary exposure and biomarkers of arsenic in consumers of fish and shellfish from France

V. Sirot*, T. Guérin, J.-L. Volatier, J.-C. Leblanc

Agence française de sécurité sanitaire des aliments, French Food Safety Agency, 27-31 avenue du Général Leclerc, 94701 Maisons Alfort cedex, France

ARTICLE DATA

Article history:

Received 25 April 2008

Received in revised form

13 November 2008

Accepted 25 November 2008

Available online 21 December 2008

Keywords:

Arsenic

Dietary exposure

Fish

Shellfish

Biomarker

ABSTRACT

Seafood, especially fish, is considered as a major dietary source of arsenic (As). Seafood consumption is recommended for nutritional properties but contaminant exposure should be considered. The objectives were to assess As intake of frequent French seafood consumers and exposure via biomarkers. Consumptions of 996 high consumers (18 and over) of 4 coastal areas were assessed using a validated food frequency questionnaire. Seafood samples were collected according to a total diet study (TDS) sampling method and analyzed for total As, arsenite (AsIII), arsenate (AsV), arsenobetaine (AsB), monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA). The average As dietary exposure is 94.7 ± 67.5 $\mu\text{g/kg}$ bw/week in females and 77.3 ± 54.6 $\mu\text{g/kg}$ bw/week in males ($p < 0.001$) and the inorganic As dietary exposure is respectively 3.34 ± 2.06 $\mu\text{g/kg}$ bw/week and 3.04 ± 1.86 $\mu\text{g/kg}$ bw/week ($p < 0.05$).

Urine samples were collected from 382 of the subjects. The average urinary As concentration is 94.8 ± 250 $\mu\text{g/g}$ creatinine for females and 59.7 ± 81.8 $\mu\text{g/g}$ for males ($p < 0.001$). Samples having an As concentration above 75 $\mu\text{g/g}$ creatinine ($n = 101$) were analyzed for inorganic As (As(III), As(V), MMA(V) and DMA(V)) which was 24.6 ± 27.9 $\mu\text{g/g}$ creatinine for males and 27.1 ± 20.6 $\mu\text{g/g}$ for females. Analyses do not show any correlation between dietary exposure and urinary As.

These results show that biological results should be interpreted cautiously. Diet recording seems to be the best way to assess dietary As exposure. Seafood is a high source of As exposure but even among high consumers it is not the main source of toxic As. From a public health point of view these results should be interpreted carefully in the absence of international consensus on the health-based guidance value.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Arsenic (As) is a soil contaminant naturally present in the environment but whose main anthropogenic origins are the use of pesticides, atmospheric releases from incineration installations and industrial activity (ATSDR, 2007). The environment is considered to be the main source of exposure to arsenic, especially through drinking water. Dermal absorp-

tion is much less than by the oral or inhalation routes. The human exposure to total As (As_{To}) is also increased by cigarette smoking, but food remains the prime source of ingestion (IPCS, 2001; ATSDR, 2007). Researchers have been studying As exposure through the whole diet for only ten years now.

In the environment and in the diet, As could be in the organic and inorganic forms. The methylation of inorganic As

* Corresponding author. AFSSA, 27-31 Avenue du Général Leclerc, F-94701 MAISONS-ALFORT cedex, France. Tel.: +33 1 49 77 38 07; fax: +33 1 49 77 38 92.

E-mail address: v.sirot@afssa.fr (V. Sirot).

is the major metabolism pathway. In humans, arsenate (AsV) is first reduced to arsenite (AsIII), itself methylated into methylarsonic and dimethylarsinic acids (MMA and DMA), most of which are then excreted via the renal pathway. Excretion via feces, nails and hair is minor (ATSDR, 2007).

The International Agency for Research on Cancer (IARC) classifies As as a carcinogenic agent for humans (category 1). Acute severe exposure to As results in vomiting, abdominal pain and diarrhea; prolonged exposure to low doses of As in drinking water can cause cancer of the skin, lung, bladder or kidney, and skin disorders such as hyperkeratosis and pigmentation modifications (Wu et al., 1989; Chen et al., 1992). Although the role of As is not clear, it has been proposed that the As mediated intracellular biosynthesis of reactive oxygen species (ROS) such as free radicals (particularly H_2O_2), may be implied in the carcinogenic process induced by As via DNA damage (NRC, 2001). Santra et al. (2000) have shown that an ingestion of drinking water containing As could induce a decrease in the level and activity of some oxidative stress protective enzymes and an increase in concentration of final lipid peroxidation products.

Public health organizations consider inorganic As (AsIII and to a lesser extent AsV) to be the most dangerous forms and the methylated forms to be less harmful. Recently, scientists have moderated their position as analytical speciation techniques continue to improve and in the light of the latest toxicological studies (Velez and Montoro, 2001; Vahter, 2002; Hirano et al., 2004). These studies reveal that DMA is probably carcinogenic or promotes carcinogenesis and that the MMA(III) and the DMA(III) may be indirect genotoxic (Velez and Montoro, 2001). Iron-dependant synthesis of ROS may be activated by a release of iron from ferritin induced by methylated arsenicals (Ahmad et al., 2000). Then, MMA(III) may be the most toxic form in terms of oxidative stress, enzyme inhibition and DNA damage (NRC, 2001). Nevertheless Mass et al. (2001) have shown in 2001 that MMA(III) and in a lesser extent DMA(III) could induce damage to DNA in vitro apart from the oxidative stress route.

The average daily dietary exposure of As_{Tot} in Europe was estimated in 2003 to be 125 μg in adults, and the contribution of seafood to this exposure exceeded 50% (European Commission, 2004). The organic forms of As – mainly arsenobetaine (AsB), arsenocholine (AsC), MMA and DMA – are predominant in seafood matrices (Schoof et al., 1999; Borak and Hosgood, 2007) contrary to grain, meat, dairy products and water/beverages. Thus, even if the consumption of fish and shellfish provides the largest part of dietary As, for example 90% in US diet (Adams et al., 1994) or 62% in French one (Leblanc et al., 2005), only a relatively small share of dietary inorganic As comes from seafood. The scientific literature reports that 0.4% to 5.3% of the As present in seafood are in the inorganic form (Schoof et al., 1999), and most of the As is in the organic form as AsB (Velez et al., 1995; Borak and Hosgood, 2007).

A lot of contamination data on seafood is available today (European Commission, 2004; Borak and Hosgood, 2007). However the Scientific Cooperation (SCOOP) reports on tasks of the European Commission underlines the difficulty in evaluating precisely the As exposure due to the diversity of its origins: sea fish, river fish, fish farms, etc (European Commission, 2004). European data provide average contam-

ination levels for fish and other seafood (including mollusks, crustaceans and echinoderms) ranging from less than 0.1 $\mu g/g$ to 18 $\mu g/g$ (European Commission, 2004). The reliability of the data used is one of the major points in quantitative risk assessment. Contamination data crossed with consumption data have to match. In other words, the use of foreign contamination data for national consumption data should be avoided if it is known that foreign products are not consumed. The main challenge in exposure assessment is to have local contamination and consumption data at one's disposal. In France, the average daily dietary exposure for the adult population was estimated in 2000 by a duplicate meal method in catering establishments to be 109 μg (Leblanc et al., 2000). A more recent estimation combining national consumption data with the contamination data of the first French Total Diet Study (TDS) indicates an average daily intake of 62 μg for adults (6.2 $\mu g/kg$ bw/week for a person weighting 70 kg), of which 62% comes from seafood (Leblanc et al., 2005).

In the present situation the national agencies recommend eating more fish for their nutritional properties and especially their long chain polyunsaturated fatty acids (omega 3). It is then of interest to provide more data about seafood contamination by As insofar as seafood is known to be the major dietary contributor to the exposure. It is also of interest to provide more data on precise exposure, especially in a population of high consumers who are supposed to be highly exposed and then a population "at risk", in spite of their high healthy intake of omega 3. Such data allow national safety agencies to propose food standards concordant with protection of the population.

The main objectives of this paper were then to assess total as well as inorganic As exposure of a population of French frequent seafood consumers first through their seafood consumptions, but also in a second time taking the whole diet into account insofar as other foods can highly contribute to the As exposure. That is why exposure is assessed through original consumption and local contamination data and through biomarkers by measuring the level of urinary As.

2. Subjects and methods

2.1. Subjects and consumption survey

996 subjects (713 females and 283 males), frequent fish and shellfish consumers (at least two meals a week), aged 18 and over were randomly recruited in four French coastal areas (about 250 people per study zone) within a radius of 20 to 25 km around those towns: Le Havre in Upper-Normandy/Channel, Lorient in Brittany/North Atlantic Ocean, La Rochelle in Poitou-Charentes/North Atlantic Ocean, and Toulon in Provence-Alpes-Côte d'Azur/Mediterranean Sea.

Dietary consumptions were assessed using a validated food frequency questionnaire (FFQ). For the 83 seafood including fish, mollusks, crustaceans and seafood-based dishes, consumption frequencies were recorded and quantities consumed were assessed through a validated book of sample photographs (Le Moullec et al., 1996). More especially the FFQ included questions on the purchase place frequency for each product. For other dietary products than seafood,

Table 1 – Mean As concentration in fish, shellfish and other seafood products ($\mu\text{g/g}$ fresh weight)

Species	n ^a	As _T ^b	AsB	MMA	DMA	As _{Inorg}	% As _{Inorg}
<i>Fresh and frozen fish</i>							
Anchovy (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	1	0.94	0.72	0.025	0.003	0.015	1.6
Angler fish (<i>Lophius piscatorius</i> , <i>Lophius budegassa</i>)	4	6.00	6.64	0.004	0.004	0.013	0.2
Catshark (<i>Scyliorhinus canicula</i> , <i>Scyliorhinus stellaris</i>)	4	34.3	31.2	0.004	0.014	0.042	0.1
Cod (<i>Gadus morhua</i>)	4	5.25	5.31	0.004	0.010	0.017	0.3
Dab (<i>Limanda limanda</i> , <i>Microstomus kitt</i>)	4	21.8	19.9	0.004	0.006	0.030	0.1
Eel (<i>Anguilla anguilla</i>)	1	0.71	0.58	0.004	0.004	0.005	0.7
Emperor (<i>Hoplostethus atlanticus</i>)	3	1.19	0.83	0.004	0.002	0.008	0.7
Goatfish (<i>Mullus barbatus</i> , <i>Mullus surmuletus</i>)	3	16.1	15.6	0.038	0.041	0.068	0.4
Grenadier (<i>Coryphaenoides rupestris</i>)	4	3.90	4.16	0.004	0.002	0.008	0.2
Gurnard (<i>Trigla lucerna</i> , <i>Eutrigla gurnardus</i> , <i>Aspitrigla cuculus</i>)	1	6.28	6.91	0.004	0.014	0.018	0.3
Haddock (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	2	6.52	6.57	0.004	0.009	0.013	0.2
Hake (<i>Merluccius merluccius</i>)	4	4.28	4.21	0.004	0.035	0.018	0.4
Halibut (<i>Hippoglossus hippoglossus</i> , <i>Reinhardtius hippoglossoides</i> , <i>Reinhardtius hippoglossoides</i>)	4	5.69	4.98	0.004	0.053	0.013	0.2
John dory (<i>Zeus faber</i>)	2	1.12	0.81	0.297	0.037	0.015	1.3
Ling (<i>Molva molva</i> , <i>Molva dypterygia dypterygia</i> , <i>Molva dypterygia dypterygia</i>)	4	4.70	4.36	0.004	0.004	0.008	0.2
Mackerel (<i>Scomber scombrus</i>)	4	2.41	1.70	0.078	0.138	0.029	1.2
Plaice (<i>Pleuronectes platessa</i> , <i>Glyptocephalus cynoglossus</i> , <i>Glyptocephalus cynoglossus</i>)	2	12.4	13.0	0.004	0.022	0.015	0.1
Pollack (<i>Pollachius pollachius</i>)	3	3.65	3.36	0.004	0.006	0.040	1.1
Pout (<i>Trisopterus luscus</i> , <i>Trisopterus minutus capelanus</i> , <i>Trisopterus minutus capelanus</i>)	1	13.8	16.8	0.004	0.070	0.073	0.5
Ray (<i>Raja clavata</i> , <i>Raja naevus</i> , <i>Raja circularis</i>)	4	21.8	17.6	0.004	0.065	0.069	0.3
Saithe (<i>Pollachius virens</i>)	4	1.40	1.41	0.014	0.010	0.017	1.2
Salmon (<i>Salmo salar</i>)	4	1.66	1.32	0.015	0.003	0.024	1.5
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	4	6.02	5.81	0.025	0.100	0.048	0.8
Scorpionfish (<i>Scorpaena porcus</i> , <i>Scorpaena scrofa</i> , <i>Helicolenus dactylopterus</i>)	1	1.92	1.85	0.004	0.014	0.011	0.6
Sea bream (<i>Spondyliosoma cantharus</i> , <i>Sparus aurata</i> , <i>Pagellus bogaraveo</i>)	4	3.30	2.68	0.054	0.075	0.051	1.6
Seabass (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	4	1.90	1.70	0.004	0.007	0.022	1.2
Sole (<i>Solea solea</i>)	4	14.3	14.5	0.004	0.044	0.011	0.1
Swordfish (<i>Xiphias gladius</i>)	4	1.00	0.70	0.013	0.026	0.031	3.1
Tuna (<i>Thunnus thynnus</i>)	4	2.45	1.79	0.029	0.016	0.009	0.4
Whiting (<i>Merlangius merlangus</i> , <i>Micromesistius poutassou</i>)	4	3.85	3.75	0.011	0.006	0.028	0.7
<i>Mollusks and crustaceans</i>							
Calico scallop (<i>Chlamys varia</i>)	1	2.42	1.90	0.004	0.190	0.004	0.2
Cockle (<i>Cerastoderma edule</i>)	2	1.78	1.50	0.004	0.024	0.106	6.0
Crab (<i>Cancer pagurus</i>)	3	16.8	13.1	0.004	0.051	0.253	1.5
Cuttle fish (<i>Sepia officinalis</i>)	2	5.59	5.30	0.014	0.035	0.031	0.6
Great scallop (<i>Pecten maximus</i>)	4	2.96	2.41	0.004	0.049	0.097	3.3
Lobster (<i>Homarus gammarus</i>)	1	7.08	5.35	0.004	0.094	0.042	0.6
Mussel (<i>Mytilus edulis</i>)	4	6.61	5.55	0.023	0.174	0.090	1.4
Octopus (<i>Octopus vulgaris</i>)	1	42.3	32.0	0.004	0.015	0.227	0.5
Oyster (<i>Crassostea gigas</i>)	4	2.20	1.61	0.005	0.080	0.110	5.0
Periwinkle (<i>Littorina littorea</i>)	3	6.39	4.08	0.020	0.055	0.186	2.9
Scampi (<i>Nephrops norvegicus</i>)	3	8.75	7.08	0.004	0.006	0.090	1.0
Sea urchin (<i>Paracentrotus lividus</i>)	1	3.25	2.90	0.004	0.030	0.218	6.7
Shrimp (<i>Palaemon serratus</i> , <i>Crangon crangon</i>)	4	1.31	1.12	0.004	0.020	0.010	0.8
Spider crab (<i>Maia squinado</i>)	1	37.2	27.4	0.159	0.067	0.184	0.5
Squid (<i>Loligo vulgaris</i>)	4	5.92	5.06	0.004	0.008	0.007	0.1
Swimcrab (<i>Portunus puber</i>)	2	10.1	8.37	0.004	0.157	0.054	0.5
Whelk (<i>Buccinum undatum</i>)	3	15.8	14.5	0.004	0.018	0.078	0.5
<i>Canned food</i>							
Anchovy (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	2	0.80	0.57	0.019	0.036	0.019	2.4
Crab (<i>Cancer pagurus</i>)	1	2.23	2.05	0.004	0.003	0.068	3.1
Mackerel (<i>Scomber scombrus</i>)	1	0.70	0.18	0.082	0.186	0.007	1.0
Pilchard (<i>Sardina pilchardus</i>)	1	1.91	1.59	0.004	0.139	0.065	3.4
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	1	3.54	2.14	0.004	0.018	0.031	0.9
Tuna (<i>Thunnus alalunga</i> , <i>Euthynnus pelamis</i>)	5	0.81	0.94	0.004	0.011	0.004	0.5
<i>Smoked fish</i>							
Haddock (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	1	1.06	1.16	0.004	0.001	0.017	1.6
Herring (<i>Clupea harengus</i>)	1	1.25	1.62	0.004	0.015	0.009	0.7
Mackerel (<i>Scomber scombrus</i>)	1	2.06	1.58	0.004	0.307	0.031	1.5
Salmon (<i>Salmo salar</i>)	1	2.00	1.48	0.004	0.049	0.002	0.1

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Species	n ^a	As _T ^b	AsB	MMA	DMA	As _{Inorg}	% As _{Inorg}
Seafood-based dish							
Fish soup	2	0.68	0.89	0.004	0.003	0.020	2.9
Paella	1	0.11	0.27	0.004	0.007	0.002	1.8
Surimi	1	0.39	0.33	0.004	0.001	0.007	1.8
Tarama	1	0.18	1.18	0.004	0.118	0.002	1.1

^a Number of composite samples. Each sample is composed by 5 subsamples of the same specie, representative of the provisioning methods in each zone (port, market, supermarket...).

^b The total for the forms of speciation of As is not equal to the total arsenic (As_T) for all species since the concentrations supplied correspond to individual analyses of elements.

consumptions were assessed by combining the registered consumption frequency by an average portion size from the French national consumption survey INCA (Volatier, 2000).

The detailed methodology of the individual recruitment and the consumption survey has already been described elsewhere (Bemrah et al., in press).

2.2. Food sampling and analyses

Among the 83 seafood products of the FFQ 63 were selected covering 88% to 100% of the total seafood consumption. A local sampling was performed, according to the standardized total diet study (TDS) methodology recommended by international Committees (WHO/U.S. FDA, 1999; WHO/ANFZA/ FAO, 2002; WHO/INRA, 2004) and developed in the first French total diet study (Leblanc et al., 2005). 159 products were sampled in the 4 regions, including 138 fresh and frozen fish, mollusks and crustaceans, 21 canned products, smoked fish and seafood-based dishes. For each species the sampling took into account the frequencies and quantities consumed, and the favorite place of purchase of the consumers. The methodology has already been described in detail (Sirof et al., 2008a). Samples were prepared for analysis in compliance with the EN 13804: 2002 standard.

As_{Tot} was measured in food samples at m/z 75 by ICP-MS (ELAN 6000 ICP-MS, Perkin-Elmer, France). 250 mg of dry sample was weighted. 6 mL of 70% nitric acid was added. The samples were left at room temperature overnight and 2 mL of hydrogen peroxide was then added. The samples were heated at 85 °C for 3 h. The extract volume was adjusted to 50 mL with ultrapure water. The quantification was done by external calibration with acid matrix matching method.

The As speciation in food samples was realized by high performance liquid chromatography (HPLC) hyphenated to ICP-MS. The method used was adapted to Simon et al. (2004a, b). The extraction of organic and inorganic As compounds was carried out in 5 mL of ultrapure water and 5 mL of methanol. The extract was sonicated during 1 h and centrifuged at 2500 rpm during 5 min before analysis. Quantification was done by the standard addition method.

For the both methods, the LODs and LOQs were estimated at 3 and 10 times the standard deviation of the average from the blank samples (n=21) after correction of sample weight and dilutions (Table 1). The laboratory reagent blank samples were treated and analyzed using the same method as the real

samples, one blank for each series of samples. The blank result was subtracted from the sample measurements. The LOD were used to identify any cross contamination or memory effects from sample preparation. During the determination, duplicate analysis, spiked sample recoveries and check values were included. Moreover, for quality control purposes, a sample blank and certified reference materials (CRMs) purchased from Promochem (Molsheim, France) were used. DORM 2: dogfish muscle (certified for AsB and total As) and CRM 627: tuna fish tissue (certified for AsB, DMA and total As) were included in each batch of samples to check the accuracy of the methods, according to the EN 13804: 2002 standard. Sixteen replicates of both CRMs were analyzed. The accuracies were confirmed by a quantitative average recovery of AsB: 3.7±0.5; DMA: 0.16±0.02 µg As/g (n=16) from CRM 627 certified values (AsB: 3.9±0.2; DMA: 0.15±0.02) and of AsB: 16.9±1.2; As_{Tot}: 18.7±2.9 µg As/g (n=16) from DORM 2 certified values (AsB: 16.4±1.1; As_{Tot}: 18.0±1.1 µg As/g). The observed values were in good agreement with the certified values. Some samples were extracted in duplicate and the mean recorded. The relative standard deviation of the parallel samples with concentrations over the LOQ had to be less than the intermediated precision reproducibility estimated (CV_R=8%, n=16) (Noël et al., 2005). All duplicates were within the confidence interval (CI) (k=1) estimated from CV_R. During the determination, spiked sample recoveries and check values (calibration with r²<0.995, drift<20%) were also included. The results of the laboratory spiked control sample were within the 95% confidence interval (spiked value±2×CV_R) for the entire sample series.

Results are presented as µg contaminant per g of fresh weight for each species and scientific names are specified. For some species, more than one scientific name is provided because the common names or commercial names consisted in several species.

2.3. Dietary exposure assessment

The dietary As exposure through seafood consumption was assessed by combining individual consumption data for each species with contamination data for As_{Tot} and As speciation metabolites, and divided by the individual body weight. The censored contamination data (<LOD) have been taken to be equal to 1/2 LOD as suggested by the international guidelines (FAO/WHO, 1995).

The dietary exposure through the other products than seafood (beverages, cakes and cereals, dairy products, fats and oil, fruits, meat products, potatoes, prepared dishes, vegetable and soups, and water) was assessed by combining the individual consumption data registered by the FFQ with contamination data coming from the first French TDS (Leblanc et al., 2005). As this TDS provides only data on As_{Tot} levels in foods, the part of inorganic As in foodstuffs has been calculated according to the estimations proposed by the WHO: 75% in meat and in dairy products, 65% in poultry and in cereals, 10% in fruits and 5% in vegetables (WHO, 2004). In drinking water and other beverages, it has been assumed that 100% As was inorganic (U.S. EPA, 2001).

2.4. Biological analysis and biomarker indicator

Urine sample was collected once in the morning from 382 volunteers (102 males and 280 females) aged 18 to 81 participating in the consumption survey. The As_{Tot} concentration was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after a six-fold dilution in a solution with 10 $\mu\text{g/L}$ of europium used as internal standard (LOQ = 5 $\mu\text{g/L}$, LOD = 1.3 $\mu\text{g/L}$). The As speciation was performed on the 101 samples exceeding 75 $\mu\text{g/g}$ creatinine (22 males and 79 females aged 19 to 77). AsB and AsC were separated by liquid–liquid phase extraction to determine only As(III), As(V), MMA(V) and DMA(V) by graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GFAAS) using Zeeman effect background correction (Le Bouil et al., 1997).

For subjects having urinary levels lower than the LOQ, the concentrations have been taken to be 1/2 LOQ. Results are presented for adult males and females. Paired t-tests were performed to compare both group results. Pearson's correlations were calculated between food intakes, As_{Tot} and As metabolite dietary intakes and biomarker results. All data analyses were performed with the use of SAS version 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and discussion

3.1. Food contamination by As

For all the sampled products AsB is detected in 100% of the samples. It is the prevalent form of As and is considered as non-toxic (Table 1) (Borak and Hosgood, 2007). The less toxic forms DMA and MMA are detected respectively in 83.7% and 14.5% of the samples, and the inorganic forms are detected in 91.2% of the samples, which is concordant with the scientific literature (Schoof et al., 1999; Sloth et al., 2005).

As expected, the total contents of the different As forms is sometimes different from the As_{Tot} level. When the sum is less than the As_{Tot} level, the difference may be explained by the non-detection of some As species, which induces a slight underestimation of the total As species. In the opposite case, this is mainly due to the fact that As_{Tot} and the speciation forms were quantified using two distinct analytical techniques, although the observed differences generally remain within the estimated limits of measuring uncertainty of the methods.

The fish species containing the highest concentrations of As_{Tot} are bottom fish (Table 1): plaice (*Pleuronectes platessa*, *Glyptocephalus cynoglossus*, *Glyptocephalus cynoglossus*), pout (*Trisopterus luscus*, *Trisopterus minutus capellanus*, *Trisopterus minutus capellanus*), sole (*Solea solea*), goatfish (*Mullus barbatus*, *Mullus surmuletus*), ray (*Raja clavata*, *Raja naevus*, *Raja circularis*), common dab (*Limanda limanda*, *Microstomus kitt*) and catshark or dogfish (*Scyliorhinus canicula*, *Scyliorhinus stellaris*). Their levels range between 12 and 34 $\mu\text{g/g}$. Those results are concordant with the data from De Gieter et al. (2002) who studied seafood from French and English origin and from Marti-Cid et al. (2007) who analyzed seafood species purchased in Spain. Inorganic As in fresh and frozen fish represents 0.1% to 3.5% of As_{Tot} , which is also consistent with the literature (Velez et al., 1995; Schoof et al., 1999; Borak and Hosgood, 2007).

The fish containing the highest levels of inorganic As (AsIII and AsV) are pout, ray and goatfish with respectively 0.073, 0.069 and 0.068 $\mu\text{g/g}$. The least contaminated by inorganic As are mainly predator species: eel (*Anguilla anguilla*) with 0.005 $\mu\text{g/g}$, ling (*Molva molva*, *Molva dypterygia dypterygia*, *Molva dypterygia dypterygia*), grenadier (*Coryphaenoides rupestris*) and emperor (*Hoplostethus atlanticus*) with 0.008 $\mu\text{g/g}$. Inorganic As in fresh and frozen fish represents 0.1% in catshark to 3% of As_{Tot} in swordfish (*Xiphias gladius*).

Among mollusks and crustaceans, octopus (*Octopus vulgaris*) is the species with the highest level of As_{Tot} (42.3 $\mu\text{g/g}$). Otherwise crustaceans are found to be the most contaminated with 37.2 $\mu\text{g/g}$ for the spider crab (*Maia squinado*) and 16.8 $\mu\text{g/g}$ for crabs including the common crab (*Cancer pagurus*); these also have very high levels of inorganic As (0.184 and 0.253 $\mu\text{g/g}$ respectively). Inorganic As in mollusks and crustaceans represents 0.1% in squid to 6% of As_{Tot} in cockle (*Cerastoderma edule*). A high inorganic As level of 0.218 $\mu\text{g/g}$ was noticed in echinoderm in Mediterranean sea urchins (*Paracentrotus lividus*), which represents the highest percentage of inorganic As (6.7%).

Among other seafood, the canned products present the highest levels. As_{Tot} levels are found to be 3.54 $\mu\text{g/g}$ in canned sardine (*Sardina pilchardus*) and 2.23 $\mu\text{g/g}$ in canned crab; particularly, for inorganic As the average level is about 0.07 $\mu\text{g/g}$ for canned crab and pilchard. The other products, smoked fish or prepared seafood-based dishes, contain very low levels of As. Inorganic As in these products represents 0.1% in smoked salmon (*Salmo salar*) to 3.4% of total As in canned pilchard.

The contamination results are generally consistent with the British FSA study (FSA, 2005). Nevertheless, as it was underlined by the 2004 EU SCOOP report, the diversity of origins of seafood results in variability in contamination levels. For example, data from European countries indicate mean As level range for fish, mollusks, crustaceans and echinoderms from less than 0.1 $\mu\text{g/g}$ to 18 $\mu\text{g/g}$ (European Commission, 2004). Recent studies indicate a great As concentration range for different samples of a same species: for example $[5.4 \pm 0.6; 34.2 \pm 6.4]$ $\mu\text{g/g}$ for shrimp (Hirata et al., 2006), or significant differences in As levels between dogfish or catshark from French coast and western North Sea and between sole from the Bay de Seine and western North Sea (De Gieter et al., 2002). Differences could be related to geographical, seasonal or environmental differences. Moreover the maximal regulatory levels for As or inorganic As, when it exist, are different from one country to another.

Unlike fish, the As_{Tot} and inorganic As levels for mollusk and crustacean samples exceed those found by the FSA (FSA, 2005), which is probably explained by different provisionings (local fishing, etc.). It was noticed that the mollusk with the highest mean concentration in As_{Tot} is octopus (42.3 $\mu\text{g/g}$). However it should be underlined that the part of inorganic As for this species is 0.54%. So, taking into account the low consumption of octopus, this is not likely to pose a significant food safety risk even if some sub-samples of this sample could present higher inorganic As level.

3.2. Dietary exposure

3.2.1. Dietary exposure through seafood consumption

Table 2 shows the exposure to As_{Tot} , organic and inorganic As species through seafood consumption. Details on quantities consumed and frequencies for each seafood species are described elsewhere (Bemrah et al., in press).

With an average As_{Tot} exposure of $62.4 \pm 53.5 \mu\text{g/kg bw/week}$ for females (P95 = $162 \mu\text{g/kg bw/week}$) and $50.3 \pm 43.0 \mu\text{g/kg bw/week}$ in males (P95 = $127 \mu\text{g/kg bw/week}$), the fresh and frozen fish group appears to be the highest contributor among seafood to the As_{Tot} exposure. Cod (*Gadus morhua*), ray, sole, catshark/dogfish and sardine are generally the main contributors to the As_{Tot} exposure, these only species corresponding to 54% of all fish contributors (contributions not presented). More especially among seafood the fish group (fresh, canned or smoked) generally accounts for about 48% of contribution to inorganic As intake through seafood. Cod, ray, salmon, sardine, saithe/coalfish, and mackerel (*Scomber scombrus*) are usually important contributors of inorganic As exposure. The contribution of these 6 species represents 53% of all fish contributors i.e. 4–5% to the total inorganic As dietary exposure.

Compared with fish, the fresh and frozen mollusk and crustacean consumption contribute for a quarter of the As_{Tot} exposure. As they have a greater proportion of inorganic As (1.88% versus 0.71%) but are less consumed than fish, they contribute about likewise to fish to the inorganic As exposure. Among shellfish, great scallop (*Pecten maximus*), oyster (*Crassostea gigas*), crab, mussel (*Mytilus edulis*) and scampi (*Nephrops norvegicus*) are the main inorganic As contributors.

Canned fish, smoked fish and seafood-based dishes present as mollusks and crustaceans a higher proportion of inorganic As than fish (1.63%). Nevertheless, due to their low consumption and their general low contamination, they contribute less to the exposure.

Through their only consumption of fresh and frozen fish, mollusks and crustaceans, females are significantly more exposed to the different As species, organic as well as inorganic ones ($p=0.5\text{--}0.001$) except for DMA exposure for which the difference is not significant. This is mainly due to their lowest body weight. For canned fish, smoked fish and seafood-based dishes, the same trend is observed i.e. females seem to be more exposed than men but this trend is not significant.

3.2.2. Dietary exposure through the whole diet

Table 3 shows the exposure through the consumption of the different food groups of the total diet for the 996 subjects of the study, including seafood as a particular group.

Table 2 – Exposure of the 996 subjects to organic and inorganic species of As ($\mu\text{g/kg bw/week}$) through seafood consumption

		AsB	MMA	DMA	Total org As	As(III)	As(V)	Total inorg As	Total As
Fresh and frozen fish	Females	Mean $\pm$ SD	0.157 $\pm$ 0.263	0.277 $\pm$ 0.360	59.4 $\pm$ 51.2	0.242 $\pm$ 0.275	0.049 $\pm$ 0.035	0.291 $\pm$ 0.302	62.4 $\pm$ 53.5
	P95	156	0.478	0.830	156	0.657	0.115	0.755	162
Fresh and frozen mollusks and crustaceans	Males	Mean $\pm$ SD	0.123 $\pm$ 0.183*	0.266 $\pm$ 0.330	47.0 $\pm$ 40.1***	0.186 $\pm$ 0.188**	0.042 $\pm$ 0.033**	0.227 $\pm$ 0.211**	50.3 $\pm$ 43.0**
	P95	125	0.397	0.905	126	0.535	0.103	0.621	127
Canned fish	Females	Mean $\pm$ SD	0.030 $\pm$ 0.039	0.218 $\pm$ 0.304	19.1 $\pm$ 22.4	0.304 $\pm$ 0.476	0.019 $\pm$ 0.020	0.323 $\pm$ 0.492	22.7 $\pm$ 26.6
	P95	55.6	0.093	0.677	57.1	0.892	0.048	0.924	68.0
Smoked fish	Males	Mean $\pm$ SD	0.022 $\pm$ 0.027***	0.209 $\pm$ 0.276	15.8 $\pm$ 17.4*	0.229 $\pm$ 0.265**	0.016 $\pm$ 0.013**	0.245 $\pm$ 0.274**	18.8 $\pm$ 21.4*
	P95	42.3	0.066	0.600	42.6	0.663	0.037	0.707	51.0
Seafood-based dishes	Females	Mean $\pm$ SD	0.028 $\pm$ 0.047	0.068 $\pm$ 0.109	1.63 $\pm$ 1.91	0.023 $\pm$ 0.035	0.008 $\pm$ 0.010	0.031 $\pm$ 0.044	1.95 $\pm$ 2.25
	P95	4.05	0.095	0.216	4.28	0.075	0.020	0.095	5.26
Seafood-based dishes	Males	Mean $\pm$ SD	0.029 $\pm$ 0.036	0.072 $\pm$ 0.086	1.63 $\pm$ 1.70	0.023 $\pm$ 0.030	0.008 $\pm$ 0.008	0.031 $\pm$ 0.036	1.99 $\pm$ 2.01
	P95	4.47	0.100	0.228	4.84	0.077	0.024	0.101	6.12
Seafood-based dishes	Females	Mean $\pm$ SD	0.001 $\pm$ 0.002	0.019 $\pm$ 0.051	0.463 $\pm$ 0.679	0.002 $\pm$ 0.006	0.001 $\pm$ 0.002	0.004 $\pm$ 0.007	0.516 $\pm$ 0.751
	P95	1.55	0.004	0.071	1.62	0.009	0.005	0.015	1.68
Seafood-based dishes	Males	Mean $\pm$ SD	0.001 $\pm$ 0.001	0.018 $\pm$ 0.039	0.431 $\pm$ 0.518	0.002 $\pm$ 0.004	0.001 $\pm$ 0.002	0.003 $\pm$ 0.006	0.453 $\pm$ 0.512
	P95	1.50	0.003	0.063	1.54	0.009	0.005	0.013	1.47
Seafood-based dishes	Females	Mean $\pm$ SD	0.008 $\pm$ 0.009	0.021 $\pm$ 0.050	1.37 $\pm$ 1.75	0.022 $\pm$ 0.033	0.012 $\pm$ 0.012	0.034 $\pm$ 0.044	0.942 $\pm$ 1.23
	P95	4.70	0.026	0.072	4.78	0.089	0.037	0.117	3.26
Seafood-based dishes	Males	Mean $\pm$ SD	0.007 $\pm$ 0.007	0.016 $\pm$ 0.021	1.22 $\pm$ 1.29	0.020 $\pm$ 0.025	0.011 $\pm$ 0.010	0.031 $\pm$ 0.034	0.833 $\pm$ 0.926
	P95	3.58	0.021	0.063	3.62	0.070	0.030	0.095	2.68

Significant differences between males and females are represented by stars (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Table 3 – Exposure to total, organic and inorganic As ($\mu\text{g/kg bw/week}$) through the whole diet of the 996 subjects

Food group		Total As		Organic As		Inorganic As	
		Mean $\pm$ SD	P95	Mean $\pm$ SD	P95	Mean $\pm$ SD	P95
All seafood	F	88.6 $\pm$ 67.1	225	81.9 $\pm$ 62.3	206	0.682 $\pm$ 0.638	1.66
	M	72.4 $\pm$ 54.4***	172	66.2 $\pm$ 49.3***	161	0.537 $\pm$ 0.410***	1.34
Other foods							
Beverages	F	1.02 $\pm$ 1.42	3.01	0.000 $\pm$ 0.000	0.000	1.02 $\pm$ 1.42	3.01
	M	1.20 $\pm$ 1.36	4.18	0.000 $\pm$ 0.000	0.000	1.20 $\pm$ 1.36	4.18
Cakes and cereals	F	0.212 $\pm$ 0.113	0.414	0.074 $\pm$ 0.039	0.145	0.138 $\pm$ 0.073	0.269
	M	0.186 $\pm$ 0.114***	0.393	0.065 $\pm$ 0.040***	0.138	0.121 $\pm$ 0.074***	0.256
Dairy products	F	0.142 $\pm$ 0.111	0.317	0.035 $\pm$ 0.028	0.079	0.106 $\pm$ 0.083	0.238
	M	0.111 $\pm$ 0.096***	0.317	0.028 $\pm$ 0.024***	0.079	0.084 $\pm$ 0.072***	0.238
Fats and oils	F	0.136 $\pm$ 0.089	0.307	0.136 $\pm$ 0.089	0.307	0.000 $\pm$ 0.000	0.000
	M	0.101 $\pm$ 0.062***	0.212	0.101 $\pm$ 0.062***	0.212	0.000 $\pm$ 0.000	0.000
Fruits	F	3.22 $\pm$ 2.78	8.76	2.90 $\pm$ 2.50	7.88	0.322 $\pm$ 0.278	0.876
	M	2.12 $\pm$ 2.01***	5.94	1.91 $\pm$ 1.81***	5.35	0.212 $\pm$ 0.201***	0.594
Meat, delicatessen and offal	F	0.250 $\pm$ 0.142	0.515	0.068 $\pm$ 0.038	0.141	0.182 $\pm$ 0.104	0.375
	M	0.226 $\pm$ 0.129***	0.455	0.061 $\pm$ 0.035***	0.127	0.164 $\pm$ 0.094***	0.329
Potatoes	F	0.082 $\pm$ 0.083	0.247	0.078 $\pm$ 0.079	0.235	0.004 $\pm$ 0.004	0.012
	M	0.073 $\pm$ 0.071	0.201	0.069 $\pm$ 0.068	0.191	0.004 $\pm$ 0.004	0.010
Prepared dishes	F	0.053 $\pm$ 0.048	0.130	0.019 $\pm$ 0.017	0.046	0.035 $\pm$ 0.031	0.085
	M	0.054 $\pm$ 0.060	0.174	0.019 $\pm$ 0.021	0.061	0.035 $\pm$ 0.039	0.113
Vegetables and soups	F	0.303 $\pm$ 0.188	0.627	0.222 $\pm$ 0.149	0.477	0.081 $\pm$ 0.072	0.221
	M	0.187 $\pm$ 0.125***	0.436	0.142 $\pm$ 0.093***	0.323	0.046 $\pm$ 0.054***	0.158
Water	F	0.770 $\pm$ 1.01	1.65	0.000 $\pm$ 0.000	0.000	0.770 $\pm$ 1.01	1.65
	M	0.639 $\pm$ 0.907*	1.34	0.000 $\pm$ 0.000	0.000	0.639 $\pm$ 0.907*	1.34
Total	F	94.7 $\pm$ 67.5	231	85.4 $\pm$ 65.6	211	3.34 $\pm$ 2.06	6.67
	M	77.3 $\pm$ 54.6***	176	68.6 $\pm$ 49.5***	164	3.04 $\pm$ 1.86*	6.84

F: females, M: males; Significant differences between males and females are represented by stars (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

The mean As_{Tot} exposure is $94.7 \pm 67.5 \mu\text{g/kg bw/week}$ for females ($\text{P95} = 231 \mu\text{g/kg bw/week}$) and $77.3 \pm 54.6 \mu\text{g/kg bw/week}$ for males ($\text{P95} = 176 \mu\text{g/kg bw/week}$), which is significantly lower ($p < 0.001$). This average exposure is much higher than the average one of the general French population estimated in 2004 to be $6.2 \mu\text{g/kg bw/week}$ for a person of 70 kg (Leblanc et al., 2005). This difference can be explained by 4 major reasons: (i) the exposure of $6.2 \mu\text{g/kg bw/week}$ includes only 57.1% of the fish consumed by the general population and 66.3% of shellfish; (ii) the frequent consumption of seafood of the studied population in that they consume more than 600 g/week only considering fresh and frozen fish, versus about 200 g/week in the general French adult population (Volatier, 2000); (iii) the mean As contamination of seafood in our study that is 3 times higher than the seafood mean contamination of the TDS, and (iv) the consumers of our study tend to consume species that contain more As (catshark, common dab, goatfish...) than the species commonly eaten by the general population (tuna, mackerel, saithe...). With an average exposure of $72.4 \pm 54.4 \mu\text{g/kg bw/week}$ for males ($\text{P95} = 172 \mu\text{g/kg bw/week}$) and $88.6 \pm 67.1 \mu\text{g/kg bw/week}$ in females ($\text{P95} = 225 \mu\text{g/kg bw/week}$), seafood appears to be the highest contributor to the As_{Tot} exposure i.e. $94 \pm 3\%$ in males and $94 \pm 2\%$ in females, as in UK (FSA, 2005).

Mean inorganic As exposure is respectively $3.34 \pm 2.06 \mu\text{g/kg bw/week}$ among females ($\text{P95} = 6.67 \mu\text{g/kg bw/week}$) and $3.04 \pm 1.86 \mu\text{g/kg bw/week}$ in males ($p < 0.05$) ($\text{P95} = 6.84 \mu\text{g/kg bw/week}$). Inorganic As represents then about 4% of the As_{Tot} intake. If seafood appears to be the highest contributor to organic As exposure ($96 \pm 1\%$ in females and $96 \pm 2\%$ in males),

water and other beverages are the two main contributors to inorganic As exposure ($54 \pm 4\%$ in females and $60 \pm 6\%$ in males). Seafood is the third one ($20 \pm 3\%$ in females and $18 \pm 4\%$ in males) with an intake of $0.54 \pm 0.41 \mu\text{g/kg bw/week}$ for males and $0.68 \pm 0.64 \mu\text{g/kg bw/week}$ for females ($p < 0.001$).

Comparisons with other countries are complicated because of differences in methodologies and because of the specificity of our population of high seafood consumers, which leads to higher values in As_{Tot} exposure. In 1992 in a Japanese woman population, As_{Tot} dietary exposure determined by the duplicate portion method was $210 \mu\text{g/day}$ (i.e. about $24.5 \mu\text{g/kg bw/week}$) and exposure determined by a market basket method was $280 \mu\text{g/day}$ (i.e. about $32.7 \mu\text{g/kg bw/week}$) (Tsuda et al., 1995). The 20th Australian TDS found an As_{Tot} dietary exposure of $3.92\text{--}6.16 \mu\text{g/kg bw/week}$ for adult men and $3.43\text{--}5.46 \mu\text{g/kg bw/week}$ for adult women (FSANZ Australia, FSANZ New Zealand, 2002). The previous US dietary exposure assessed through a TDS was $28\text{--}92 \mu\text{g/day}$ for adults aged 25–70 in 1999 (Tao and Bolger, 1999) which is the same range as the French TDS results ($62.1 \mu\text{g/day}$ for adults) (Leblanc et al., 2005). Actually, those values are close to ours if seafood is not taken into account; the difference is only explained by the seafood consumption and the remaining diet provides the same amount of As_{Tot} . As seafood provides mainly organic As, comparisons are possible with other assessments of inorganic As exposure but studies are scarce. In the Tao and Bolger estimation, inorganic As dietary exposure is assessed with the assumption that inorganic As represents 10% of the total As in seafood and 100% in other products. Based on these hypotheses, it is assumed that inorganic As exposure ranged 5.36--

12.54 $\mu\text{g/day}$, which is lower than our assessment, but in this study water and beverage provide a low As (and then inorganic As) exposure. The Yost et al. (1998) study also presents results lower than ours: 8.3 to 14 $\mu\text{g/day}$ in the United States and 4.8 to 12.7 $\mu\text{g/day}$ in Canada for various age groups. In the Chilean TDS, assuming that inorganic As represents 11% of As in seafood and 50% in other foods, the exposure was assessed to be 39 μg inorganic As per day i.e. 3.9 $\mu\text{g/kg bw/week}$ for a body weight of 70 kg, which is the same range than our results (Munoz et al., 2005).

Anyway the recording of the consumption levels in our study, a FFQ, is known to overestimate the meal frequencies. In our case this remark is particularly true for the seafood consumption insofar as seafood was not recorded in general but detailed for each fish, shellfish and seafood-based dishes. Moreover the variability in the inorganic As contamination data (different origins) is also a reason to explain the differences with other studies.

Mean inorganic As dietary exposures and even the P95 which represents the particular most at-risk subgroup of population remain well below the PTWI of 15 $\mu\text{g/kg bw/week}$ proposed for inorganic As (JECFA, 1989). Actually, only one subject (0.01%) individually exceed this PTWI. Nevertheless other Committees and Agencies proposed more recent health-based guidance values for inorganic As ranging from 0.3 to 1 $\mu\text{g/kg bw/day}$ (US EPA, 1993; ATSDR, 2000; RIVM, 2001). On the other hand in 1988 the U.S. EPA proposed a non-threshold health-based guidance value based on data on carcinogenic effects, calculated using a conservative multistage linear model. This value was expressed as the risk of developing skin cancer from lifetime exposure of 1 $\mu\text{g/kg bw/day}$ which ranged from 1.10^{-3} to 2.10^{-3} (US EPA, 1993, 1988). Assuming a value of $1.5.10^{-3} (\mu\text{g/kg bw/day})^{-1}$, for our population the mean risk of developing skin cancer would range $6.5\text{--}7.2.10^{-4}$. This range is equivalent to the risk of developing skin cancer for a 70 kg person drinking 2 L of water per day for an As contamination of 10 $\mu\text{g/L}$, which is the European and international guideline value (European Commission, 1998; WHO, 2004). The risk calculated with the P95 of exposure of our population would range $1.43\text{--}1.47.10^{-3}$ which would correspond to a non-acceptable risk. Actually in spite of the high seafood consumption, water and beverage consumptions only provide a risk exceeding 5.10^{-4} .

3.3. Biological results

Among the 382 subjects for whom biological results are available, 12 subjects (3%) have a total As level in urine under the LOQ of 5 $\mu\text{g/L}$. The mean concentration of As_{Tot} in urine is $87.7 \pm 129 \mu\text{g/L}$ for males and $95.3 \pm 218 \mu\text{g/L}$ for females (Table 4). Those results are relatively high, which is not surprising in view of the high seafood consumption of the subjects. Actually organic As, including AsB in particular, accounts for a large part of As_{Tot} in urine and reflects the intake at the last meal or at the last days. Several studies have shown that because of the half-life of As in human, the exposure continually occurred from day to day and consequently food is responsible for the continual exposure to As_{Tot} and particularly to AsB (Calderon et al., 1999; Pellizzari and Clayton, 2006).

Despite their difference in dietary exposure, there is no significant difference between males and females in urinary As_{Tot} which has already been observed in other studies (Calderon et al., 1999), but males have a lower As/creatinine level than females ($p=0.039$). Surprisingly, there is neither significant difference in urinary As nor in As/creatinine between smokers and no-smokers, although this is usually found (Lindberg et al., 2006). It may indicate that other factors such as environmental exposure could have a higher impact on biological level.

Arsenic speciation was performed on the 101 subjects (280 females and 102 males) displaying the highest level of As_{Tot} in the urine i.e. more than 75 $\mu\text{g/g}$ creatinine (Table 4). The ratio females/males in this group is higher than the one of our general population because the As/creatinine level is significantly higher in females. The mean inorganic As (AsIII, AsV and its derivatives MMA(V) and DMA(V)) concentration is $24.6 \pm 27.9 \mu\text{g/g}$ creatinine in males and $27.1 \pm 20.6 \mu\text{g/g}$ creatinine in females. Those results are below those of Hsueh et al. (2002) which are 2000 times higher but in this study, the subjects also ate seaweed on average once a week in addition to their fish and shellfish intake which mainly accounts for As exposure. The part of inorganic forms of As accounted for 16% of As_{Tot} which is the same range as those found in literature (Hsueh et al., 2002; Pellizzari and Clayton, 2006). 87 subjects (86% of the 101 subjects) have levels of inorganic As exceeding the French standard of 10 $\mu\text{g/g}$ creatinine. In toxicology and occupational medicine this standard corresponds to the P95 level for the general French population which is not professionally exposed (INRS, 2005).

The more the inorganic As dietary exposure, the more the inorganic As excretion, although the trend is not significant. Several studies have shown that seafood consumption led to an increase in As species in urine, especially organic DMA (Arbouine and Wilson, 1992; Heinrich-Ramm et al., 2001; Heinrich-Ramm et al., 2002). And urinary As is usually used as a marker of As in drinking water As intake (Mohri et al., 1990; Calderon et al., 1999; Uchino et al., 2006). Nevertheless no correlations were found between As_{Tot} dietary exposure, As_{Tot} exposure through seafood, As_{Tot} exposure through water, As_{Tot} exposure through other foodstuffs than seafood, and

Table 4 – Total As levels and speciation in urine samples

All subjects (n=382)	Females, n=280		Males, n=102	
	Mean $\pm$ SD	P95	Mean $\pm$ SD	P95
Total urinary As ($\mu\text{g/L}$)	95.3 $\pm$ 218	319	87.7 $\pm$ 129	304
Creatinine (g/L)	1.17 $\pm$ 0.60	2.20	1.57 $\pm$ 0.63 ***	2.64
As/creatinine ($\mu\text{g/g}$)	94.8 $\pm$ 250	310	59.7 $\pm$ 81.8*	230
Subjects with total As > 75 $\mu\text{g/g}$ creatinine (n=101)	Females, n=79		Males, n=22	
Total urinary As ($\mu\text{g/L}$)	260 $\pm$ 361	880	256 $\pm$ 198	603
As/creatinine ($\mu\text{g/g}$)	265 $\pm$ 427	570	174 $\pm$ 116	396
Urinary inorganic As ($\mu\text{g/L}$)	26.2 $\pm$ 21.1	67.1	35.3 $\pm$ 41.3	95.4
Urinary inorganic As/creatinine ($\mu\text{g/g}$)	27.1 $\pm$ 20.6	60.7	24.6 $\pm$ 27.9	60.5
Significant differences between males and females are represented by stars (*for $p<0.05$, **for $p<0.01$ and ***for $p<0.001$).				

urinary As_{Tot} . We found no correlation between inorganic As exposure (through seafood, other foods, and total) and inorganic As level in urine. And no correlation was found between inorganic As exposure through water and inorganic As in urine despite the well known great contribution of water in inorganic As exposure (Calderon et al., 1999; Caceres et al., 2005; Uchino et al., 2006).

Those remarks may put into question the calculation of As dietary exposure via the FFQ. On one hand, because of the use the “medium bound” approach (FAO/WHO, 1995), the exposure to certain As species is certainly overestimated, particularly MMA exposure for which 85.5% of the data were censored (concentration < LOD). On the other hand as explained previously FFQ are known to overestimate consumptions. Nevertheless the quantity of bottom fish consumed correlates significantly with the inorganic As measured in the urine divided by the creatinine ($p=0.003$). Moreover, other published papers using the consumption data from the CALIPSO study reinforces the reliability of these data in that positive correlations were found between trace element (MeHg and Cd) exposure calculated through the same FFQ, and biomarker levels (Sirot et al., 2008b, 2008c). Then consumptions may be overestimated but the overestimation is probably the same for all subjects and proportional to their actual consumption. The high variability which could exist in As contamination might explain a misestimating of As dietary exposure despite the fact that the sampling took much information into account: geographical location, usual place of purchase of the consumers, market shares of the different brands, preservation methods, etc.

However one should bear in mind that the existence of a correlation between seafood consumption and As excretion remains controversial. Some studies found an increase in inorganic As, MMA and DMA levels after consumption (Buchet et al., 1996), others indicate only an increase in DMA but neither in MMA nor in inorganic levels (Heinrich-Ramm et al., 2002). Others do not describe any increase (Hsueh et al., 2002). According to the ATSDR report, the proportion of As metabolites recovered in urine (As_{III} , As_{V} , MMA and DMA) are quite consistent regardless of the exposure. Inter-individual variation can be great enough that it cannot be determined if capacity limitation may occur in some individuals (ATSDR, 2007). Then in our study the subjects who present the highest values of urinary inorganic As have not necessarily the highest dietary exposure. They are not necessarily smokers, and their professional and entertainment activities do not indicate a particular exposure. All these remarks put into question the validity of using urinary As_{Tot} and inorganic As as biomarkers for exposure.

In rodents, some distinct organ-specific differences have been shown in the distribution and methylation of As, inorganic As and its metabolites after exposure (Kenyon et al., 2005; Adair et al., 2007). Then inorganic As dietary exposure and excretion should not be considered in its totality but each metabolite should be considered separately. In our study, speciation data are available only for fish and shellfish matrices. For a better risk analysis it should be investigated for other products, especially poultry, meat, dairy products and cereals that are known to be rich in inorganic As. Moreover it is of interest to underline that most of the exposure assessments

are based on contamination data on raw or not cooked products. But recent studies have shown that cooking might induce an increase in As level such as cooking of contaminated rice with contaminated water (Rahman et al., 2006; Signes et al., 2008; Torres-Escribano et al., 2008). Those points should be developed in the currently conducted second French Total Diet Study for which As and other elements are analyzed.

These results show that biological As results should be interpreted with caution and that other investigations should be done to use them as biomarker of dietary exposure. In the meanwhile diet recording seems to be the best way to assess dietary As exposure. Albeit seafood products remain a high source of As exposure, even among high consumers it is not the main source of toxic inorganic As. And even if this study is the largest French survey on As in seafood these new original data cannot claim to be a representative sampling of the general French provisioning of seafood market. Nevertheless the assessment conducted on this particular population shows that the conclusion on risk completely depends on the health-based guidance value considered. The major point is that assuming the EPA's value, the only water and beverages would lead to a risk considered to be unacceptable. In France, the French Food Safety Agency (AFSSA) Expert advisory Committees, in charge of putting forward Scientific Opinions on contaminants, conducts an independent and collegial discussion in order to propose a health-based guidance value for inorganic As. Risk assessment for the general population and for these particular frequent seafood consumers should be reconducted from the moment that a value will be set.

Acknowledgements

The authors would like to thank the General Directorate for Foods from the French Ministry of Agriculture and Fisheries, France, for the financial support, H. Garraud from UT2A, Pau, for the food analyses, and A. Le Bouil from the CHU, Angers, for the biological analyses. Special thanks are due to Dr. A. Baert for his attentive review. Thanks are also due to all the participants in the CALIPSO survey.

The study protocol was approved in July 2004 by French consultative committee for protection of humans in biomedical research.

REFERENCES

- Adair BM, Moore T, Conklin SD, Creed JT, Wolf DC, Thomas DJ. Tissue distribution and urinary excretion of dimethylated arsenic and its metabolites in dimethylarsinic acid- or arsenate-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007;222:235–42.
- Adams MA, Bolger PM, Gunderson EL. Dietary intake and hazards of arsenic. In: Chappell WR, Abernathy CO, Gothen CR, editors. *Arsenic: Exposure and Health Science and Technology Letters*, Northwood; 1994. p. 41–9.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile information sheet. Arsenic; 2000.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). U.S. Department of Health and Human Services, Public Health

- Service. Toxicological profile for Arsenic; 2007. Available: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf>.
- Ahmad S, Kitchin KT, Cullen WR. Arsenic species that cause release of iron from ferritin and generation of activated oxygen. *Arch Biochem Biophys* 2000;382(2):195–202.
- Arbouine MW, Wilson HK. The effect of seafood consumption on the assessment of occupational exposure to arsenic by urinary arsenic speciation measurements. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1992;6:153–60.
- Bemrah N, Sirot V, Leblanc JC and Volatier JL Fish and seafood consumption and omega 3 intake in French coastal populations: CALIPSO survey. *Public Health Nutr* in press [doi:10.1017/S1368980008002681].
- Borak J, Hosgood HD. Seafood arsenic: implications for human risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007;47:204–12.
- Buchet JP, Lison D, Ruggeri M, Foa V, Elia G. Assessment of exposure to inorganic arsenic, a human carcinogen, due to the consumption of seafood. *Arch Toxicol* 1996;70:773–8.
- Caceres DD, Pino P, Montesinos N, Atalah E, Amigo H, Loomis D. Exposure to inorganic arsenic in drinking water and total urinary arsenic concentration in a Chilean Population. *Environ Res* 2005;98:151–9.
- Calderon RL, Hudgens E, Chris Le X, Schreinemachers D, Thomas DJ. Excretion of arsenic in urine as a function of exposure to arsenic in drinking water. *Environ Health Perspect* 1999;107:663–7.
- Chen CJ, Chen CW, Wu MM, Kuo TL. Cancer potential in liver, lung, bladder and kidney due to ingested inorganic arsenic in drinking water. *Br J Cancer* 1992;66:888–92.
- De Gieter M, Leemakers M, Van Ryssen R, Noyen J, Goeyens L, Baeyens W. Total and toxic arsenic levels in north sea fish. *Arch Environ Contam Toxicol* 2002;43:406–17.
- EN 13804. Foodstuffs – determination of trace elements – performance criteria, general considerations and sample preparation. European Committee for Standardization. Brussels, Belgium: CEN; 2002.
- European Commission. COUNCIL DIRECTIVE 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption; 1998. Available at: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1998:330:0032:0054:EN:PDF>. [Accessed October 2008].
- European Commission. Scientific Cooperation (SCOOP) reports on tasks 3.2.11. Assessment of dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of EU Members States; 2004. Available: http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/scoop_3-2-11_heavy_metals_report_en.pdf.
- FAO/WHO. GEMS/Food-EURO Second Workshop on Reliable Evaluation of Low-Level Contamination of Food Report on a Workshop in the Frame of GEMS/Food-EURO Kulmbach, Federal Republic of Germany, 26–27 May 1995; 1995. Available: http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/lowlevel_may1995.pdf [accessed April 2008].
- FSA. Arsenic in fish and shellfish; 2005. Available: <http://www.food.gov.uk/science/surveillance/fsis2005/fsis8205>.
- FSANZ Australia, FSANZ New Zealand. The 20th Australian total diet survey; 2002. Available: <http://www.foodstandards.gov.au/newsroom/publications/20thaustraliantotaldietsurveyjanuary2003/20thaustraliantotaldietsurveyfullreport/> [accessed October 2008].
- Heinrich-Ramm R, Mindt-Prufert S, Szadkowski D. Arsenic species excretion in a group of persons in northern Germany—contribution to the evaluation of reference values. *Int J Hyg Environ Health* 2001;203:475–7.
- Heinrich-Ramm R, Mindt-Prufert S, Szadkowski D. Arsenic species excretion after controlled seafood consumption. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002;778:263–73.
- Hirano S, Kobayashi Y, Cui X, Kanno S, Hayakawa T, Shraim A. The accumulation and toxicity of methylated arsenicals in endothelial cells: important roles of thiol compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;198:458–67.
- Hirata S, Toshimitsu H, Aihara M. Determination of arsenic species in marine samples by HPLC-ICP-MS. 2006. *Anal Sci* 2006;22:39–43.
- Hsueh YM, Hsu MK, Chiou HY, Yang MH, Huang CC, Chen CJ. Urinary arsenic speciation in subjects with or without restriction from seafood dietary intake. *Toxicol Lett* 2002;133:83–91.
- INRS. Biotox — Guide toxicologique pour les médecins du travail; 2005 [in French] Available: www.inrs.fr.
- JECFA. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. 33rd report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants. WHO Technical Report Series 776. Geneva: WHO; 1989.
- Kenyon EM, Del Razo LM, Hughes MF. Tissue distribution and urinary excretion of inorganic arsenic and its methylated metabolites in mice following acute oral administration of arsenate. *Toxicol Sci* 2005;85:468–75.
- Leblanc JC, Malmauret L, Guérin T, Bordet F, Boursier B, Verger P. Estimation of the dietary intake of pesticide residues, lead, cadmium, arsenic and radionuclides in France. *Food Addit Contam* 2000;17:925–32.
- Leblanc JC, Guérin T, Noël L, Calamassi-Tran G, Volatier JL, Verger P. Dietary exposure estimates of 18 elements from the 1st French Total Diet Study. *Food Addit Contam* 2005;22:624–41.
- Le Bouil A, Notelet S, Cailleux A, Turcant A, Allain P. Dosage de l'arsenic urinaire après séparation de l'arsénobétaine. *Toxicorama* 1997;9:171–6.
- Le Moulec N, Deheeger M, Preziosi P, Montero P, Valeix P, Rolland-Cachera ME, et al. Validation du manuel-photos utilisé pour l'enquête alimentaire de l'étude SUVIMAX. *Cah Nutr Diet* 1996;31:158–64.
- Lindberg AL, Goessler W, Gurzau E, Koppova K, Rudnai P, Kumar R, et al. Arsenic exposure in Hungary, Romania and Slovakia. *J Environ Monit* 2006;8:203–8.
- Marti-Cid R, Bocio A, Llobet JM, Domingo JL. Intake of chemical contaminants through fish and seafood consumption by children of Catalonia, Spain: health risks. *Food Chem Toxicol* 2007;45:1968–74.
- Mass MJ, Tennant A, Roop BC, Cullen WR, Styblo M, Thomas DJ, et al. Methylated trivalent arsenic species are genotoxic. *Chem Res Toxicol* 2001;14(4):355–61.
- Mohri T, Hisanaga A, Ishinishi N. Arsenic intake and excretion by Japanese adults: a 7-day duplicate diet study. *Food Chem Toxicol* 1990;28(7):521–9.
- Munoz O, Bastias JM, Araya M, Morales A, Orellana C, Rebolloso R, et al. Estimation of the dietary intake of cadmium, lead, mercury, and arsenic by the population of Santiago (Chile) using a Total Diet study. *Food Chem Tox* 2005;43(11):1647–55.
- National Research Council (NRC). Committee on toxicology. Arsenic in drinking water. Washington DC: The National Academic Press; 2001. Available at: <http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=0309076293>.
- Noël L, Dufailly V, Lemahieu N, Vastel C, Guérin T. Simultaneous analysis of cadmium, lead, mercury and arsenic content in foodstuff of animal origin by ICP-MS after closed vessel microwave digestion: method validation. *J AOAC Int* 2005;88(6):1811–21.
- Pellizzari ED, Clayton CA. Assessing the measurement precision of various arsenic forms and arsenic exposure in the National Human Exposure Assessment Survey (NHEXAS). *Environ Health Perspect* 2006;114:220–7.
- Rahman MA, Hasegawa H, Rahman MA, Rahman MM, Majid Miah MA. Influence of cooking method on arsenic retention in cooked rice related to dietary exposure. *Sci Total Environ* 2006;370:51–60.
- RIVM. Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels. Bilthoven, Report 711701025. 2001.

- Santra A, Maiti A, Das S, Chakaborty SK, Mazumder DN. Hepatic damage caused by chronic arsenic toxicity in experimental animals. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000;38(4):395–405.
- Schoof RA, Yost LJ, Eickhoff J, Crecelius EA, Cragin DW, Meacher DM, et al. A market basket survey of inorganic arsenic food. *Food Chem Toxicol* 1999;37:839–46.
- Signes A, Mitra K, Burlo F, Carbonell-Barrachina AA. Contribution of water and cooked rice to an estimation of the dietary intake of inorganic arsenic in a rural village of West Bengal, India. *Food Addit Contam* 2008;25(1):41–50.
- Simon S, Tran H, Pannier F, Potin-Gautier M. Simultaneous determination of twelve inorganic and organic arsenic compounds by liquid chromatography-ultraviolet irradiation-hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *J Chromatogr A* 2004a;1024:105–13.
- Simon S, Lobos G, Pannier F, De Gregori I, Pinochet H, Potin-Gautier M. Speciation analysis of organoarsenical compounds in biological matrices by coupling ion chromatography to atomic fluorescence spectrometry with on-line photooxidation and hydride generation. *Anal Chim Acta* 2004b;521:99–108.
- Sirov V, Oseredczuk M, Bemrah-Aouachria N, Volatier JL, Leblanc JC. Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France. *J Food Compos Anal* 2008a;21:8–16.
- Sirov V, Guérin T, Mauras Y, Garraud H, Volatier JL, Leblanc JC. Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France. *Environ Res* 2008b;107:30–8.
- Sirov V, Samieri C, Volatier JL, Leblanc JC. Cadmium dietary intake and biomarker data in French high seafood consumers. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2008c;18:400–9.
- Sloth JJ, Larsen EH, Julshamn K. Survey of inorganic arsenic in marine animals and marine certified reference materials by anion exchange high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2005;53:6011–8.
- Tao SSH, Bolger PM. Dietary arsenic intakes in the United States: FDA total diet study, September 1991–December 1996. *Food Addit Contam* 1999;16(11):465–72.
- Tsuda T, Inoue T, Kojima M, Aoki S. Market basket and duplicate portion estimation of dietary intakes of cadmium, mercury, arsenic, copper, manganese, and zinc by Japanese adults. *J AOAC Int* 1995;78(6):1363–8.
- Torres-Escribano S, Leal M, Vélez D, Montoro R. Total and inorganic arsenic concentrations in rice sold in Spain, effect of cooking, and risk assessments. *Environ Sci Technol* 2008;42(10):3867–72.
- Uchino T, Roychowdhury T, Ando M, Tokunaga H. Intake of arsenic from water, food composites and excretion through urine, hair from a studied population in West Bengal, India. *Food Chem Toxicol* 2006;44:455–61.
- U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). Arsenic, inorganic; CASRN 7440-38-2; 1993. Available at: <http://www.epa.gov/NCEA/iris/subst/0278.htm#carc>. [Accessed October 2008].
- U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). Special report on ingested inorganic arsenic—skin cancer; nutritional essentiality. Risk Assessment Forum, Washington, DC. EPA/625/3-87/013; 1988. Available at: <http://cfpub.epa.gov/ncea/CFM/recdisplay.cfm?deid=20866> [Accessed October 2008].
- U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). National primary drinking water regulations; arsenic and clarifications to compliance and new source contaminants monitoring. Fed Regist 2001;66(14):69767066 Available at: <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-GENERAL/2001/March/Day-23/g7264.htm>.
- Vahter M. Mechanisms of arsenic biotransformation. *Toxicology* 2002;181–182:211–7.
- Velez D, Montoro R. Inorganic arsenic in foods: current overview and future challenges. *Recent Res Devel Agricult Food Chem* 2001;5:55–71.
- Velez D, Ybanez N, Montoro R. Percentages of total arsenic represented by arsenobetaine levels of manufactured seafood products. *J Agric Food Chem* 1995;43:1289–94.
- Volatier, J.L. (coordinator). Enquête INCA — individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Editions Tec & Doc, Paris 2000.
- WHO. Guidelines for Drinking-water Quality, vol. 1. Recommendations, third edition; 2004. Available at: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/guidelines3/en/ [Accessed October 2008].
- WHO/ANFZA/FAO. Total diet studies (TDS). Consultation ANFZA/WHO/FAO. Brisbane, Australia 2002. Available: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/tds_feb2002/en/index.html> [accessed 10 October 2006].
- WHO/INRA. Total diet studies (TDS). Consultation INRA/WHO. Paris, France 2004. Available: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/tds_paris04/en/index.html> [accessed, 10 October 2006].
- WHO, IPCS. Arsenic and arsenic compounds. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 224) 2001. Available: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm>.
- WHO/U.S. FDA. Total diet studies (TDS). Consultation US FDA/OMS, Kansas city, MO, USA 1999. Available: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/tds_aug1999/en/index.html> [accessed 10 October 2006].
- Wu MM, Kuo TL, Hwang YH, Chan CJ. Dose–response relation between arsenic concentration in well water and mortality from cancers and vascular diseases. *Am J Epidemiol* 1989;130:1123–32.
- Yost LJ, Schoof RA, Aucoin R. Intake of inorganic arsenic in the North American diet. *Hum Ecol Risk Assess* 1998;4(1):137–52.

available at www.sciencedirect.comjournal homepage: www.elsevier.com/locate/nmcdNutrition,
Metabolism &
Cardiovascular Diseases

A restricted cubic spline approach to assess the association between high fat fish intake and red blood cell EPA + DHA content

V. Sirot^{a,*}, C. Dumas^a, L. Desquilbet^b, F. Mariotti^{b,c}, P. Legrand^d,
D. Catheline^d, J.-C. Leblanc^a, I. Margaritis^a

^a AFSSA (French Food Safety Agency), 27 avenue du Général Leclerc, F-94701 Maisons-Alfort, France

^b AgroParisTech, CRNH-IdF, UMR914 Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, F-75005 Paris, France

^c INRA, CRNH-IdF, UMR914 Nutrition Physiology and Ingestive Behavior, F-75005 Paris, France

^d USC INRA2012, Agrocampus Ouest, Rennes, France

Received 29 January 2010; received in revised form 4 May 2010; accepted 14 June 2010

KEYWORDS

Nutrition;
EPA;
DHA;
Fatty acids;
Blood cells

Abstract *Background and aims:* Fish, especially fatty fish, are the main contributor to eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) intake. EPA and DHA concentrations in red blood cells (RBC) has been proposed as a cardiovascular risk factor, with <4% and >8% associated with the lowest and greatest protection, respectively. The relationship between high fat fish (HFF) intake and RBC EPA + DHA content has been little investigated on a wide range of fish intake, and may be non-linear. We aimed to study the shape of this relationship among high seafood consumers. *Methods and results:* Seafood consumption records and blood were collected from 384 French heavy seafood consumers and EPA and DHA were measured in RBC. A multivariate linear regression was performed using restricted cubic splines to consider potential non-linear associations. Thirty-six percent of subjects had an RBC EPA + DHA content lower than 4% and only 5% exceeded 8%. HFF consumption was significantly associated with RBC EPA + DHA content (P [overall association] = 0.021) adjusted for sex, tobacco status, study area, socioeconomic status, age, alcohol, other seafood, meat, and meat product intakes. This relationship was non-linear: for intakes higher than 200 g/wk, EPA + DHA content tended to stagnate. Tobacco status and fish contaminants were negatively associated with RBC EPA + DHA content. *Conclusion:* Because of the saturation for high intakes, and accounting for the concern with exposure to trace element contaminants, intake not exceeding 200 g should be considered. © 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

* Corresponding author. AFSSA, 27 avenue du Général Leclerc, F-94701 Maisons-Alfort, France. Tel.: +331 49 77 38 07; fax: +331 49 77 38 92.
E-mail addresses: veronique.sirotd@anses.fr (V. Sirot), cel.dumas@gmail.com (C. Dumas), loic.desquilbet@gmail.com (L. Desquilbet), francois.mariotti@agroparistech.fr (F. Mariotti), Philippe.Legrand@agrocampus-ouest.fr (P. Legrand), Daniel.Catheline@agrocampus-ouest.fr (D. Catheline), jean-charles.leblanc@anses.fr (J.-C. Leblanc), irini.margaritis@anses.fr (I. Margaritis).

Introduction

Fatty fish (FF) intake may reduce the risk of coronary heart diseases (CHD), sudden cardiac death [1], some types of cancer [2], and depression [3]. The strength of the association and potential underlying mechanisms are still under debate. However, the protective effect of FF intake has mostly been ascribed to the intake of the n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA).

Accordingly, national and international organizations have recommended intakes of fish and/or EPA + DHA, mainly based on cardiovascular effects. For instance the American Heart Association (AHA), the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL) [4], and the French Food Safety Agency [5], agree on ~500 mg EPA + DHA/d as a reference intake for cardiovascular health for the general population [6].

As regards fish, the UK Committee on Medical Aspects of Food Policy, the French National Nutrition and Health Program, the AHA, and the Health Council of the Netherlands have recommended consuming fish twice a week. More quantitatively, fish intake recommendation has been set at 8 ounces (~227 g), with half or more from FF, or mostly from fish rich in EPA + DHA [7,8].

EPA + DHA content of red blood cell (RBC) membranes is one of the best non-invasive biomarkers of the intakes [9]. Also known as "the omega-3 index", it has been proposed as a risk factor for death from CHD, especially sudden cardiac death [10,11]. A content of 8%, or more, provides the greatest protection, whereas a content lower than 4% has been associated with the greatest risk [10,11].

The consumption of FF or fish-oil capsules [12] or n-3 LC-PUFA enriched foods [13], increases the RBC n-3 FA content. In 20 subjects with low baseline RBC n-3 FA contents, fish-oil supplementation (2.1 g/d EPA + DHA), increased RBC DHA and EPA, their content nearly reaching the 8% threshold [14]. Because RBC EPA + DHA reflects dietary intake, we aimed to investigate this relationship on a wide range of intakes, and finally assess what level of high fat fish (HFF) consumption enables to reach the 8% threshold.

To maximize the health benefit of EPA + DHA, the characterization of the relationship between HFF intakes and biomarkers is required. To our knowledge, studies on RBC n-3 FA and fish consumption were generally based on linear relationships [15–19]. However, a polynomial third-degree relationship between supplemented intake and plasma DHA content has been shown [20]. Therefore, we hypothesized that such a non-linear relationship may exist between HFF intakes and RBC EPA + DHA in heavy fish-consumers. The aim was to test this hypothesis and tentatively set the optimal intake level, among frequent seafood consumers.

Methods

Subjects

The Calipso study was conducted in 2004–2005 in French coastal areas, centered on four cities: Le Havre (Channel), Lorient (North Atlantic Ocean), La Rochelle (North Atlantic Ocean), and Toulon (Mediterranean Sea). Permanent

residents (18–81) consuming seafood at least twice a week were recruited [21]. Subjects treated for diabetes, renal disease, or arterial hypertension, were excluded. The study aimed at assessing the EPA + DHA intake and contaminant exposure (including methylmercury (MeHg), cadmium, and arsenic) through seafood, and determining concentrations of some biomarkers of exposure. A sub-sample of 382 volunteers (281 females, 101 males) provided blood samples.

Recorded data

Body weight, height, age, socioeconomic status (SES), and tobacco consumption were recorded. Subjects were divided in never-smokers, ex-smokers, light-smokers (<20 cigarettes/d), and heavy-smokers (≥20 cigarettes/d). Three SES categories were defined (high, middle, low) according to the current or past occupation of the interviewee or, if higher, the SES of the head of the household.

A validated food frequency questionnaire on usual consumption was filled in by a trained interviewer [21]. For fish ($n = 40$), mollusks ($n = 20$), crustaceans ($n = 9$) and seafood-based dishes ($n = 14$), consumption frequencies were recorded and quantities consumed were assessed through a validated book of sample photographs [22]. Other foodstuff consumptions were assessed by combining the registered consumption frequency by an average portion size from the French national consumption survey INCA1 [23]. Alcohol intake (g/wk) was calculated using its mean concentration (% ethanol): beer: 4%, Champagne: 9%, wine: 11%, aperitif: 15%, spirit: 34%, liqueur: 40%.

HFF were the nine fattiest species (≥5% lipids) with EPA + DHA content exceeding 1200 mg/100 g [24] but excluding eel (*Anguilla anguilla*) because of recent eel consumption advisory bans in France. HFF consumption was assessed by summing the consumptions of Mackerel (*Scomber scombrus*), Salmon (*Salmo salar*), Herring (*Clupea harengus*), Sardine (*Sardina pilchardus*), Swordfish (*Xiphias gladius*), Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), Anchovy (*Engraulis encrasicolus*), Seabream (*Sparus aurata*), Emperor (*Hoplostethus atlanticus*). Other seafood consumption was assessed by summing other fishes, mollusks, crustaceans, and seafood-based dishes (see Table 1).

The EPA and DHA intakes and MeHg and arsenic exposure through seafood consumption only were calculated by multiplying the consumption of each species by its analyzed concentrations (from samples collected between January and April 2005) [21,24–26].

Blood analysis and RBC FA profile

Fasting blood samples were collected on heparin tubes by medical laboratories during the month following the interview and stored at -20°C . Lipid profile was then analyzed for each subject: total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and triglycerides. RBC total lipids (0.5 mL) were extracted with hexane/isopropanol mixture (3/2, v/v, 4 mL) in the presence of hydrochloric acid (3 M, 0.5 mL). After centrifugation (2000 rpm, 15 min) the organic upper layer was transferred and the aqueous layer was re-extracted with the same solvent (2 mL). Combined organic fractions were evaporated to dryness [27]. Lipids were

Table 1 Intakes and population characteristics according to high fat fish (HFF) consumption.

	Whole population (n = 382)	HFF intake quartiles ^a				p ^b
		Q1 (n = 95)	Q2 (n = 98)	Q3 (n = 93)	Q4 (n = 96)	
Intakes^c						
HFF ^d (g/wk)	235 ± 197	61 ± 27	138 ± 22	233 ± 38	507 ± 193	<0.001
Other seafood ^e (g/wk)	745 ± 490	585 ± 427	612 ± 315	737 ± 440	1046 ± 599	<0.001
Meat (g/wk)	696 ± 381	733 ± 369	654 ± 379	706 ± 384	688 ± 390	0.283
Meat products (g/wk)	227 ± 195	245 ± 193	236 ± 178	220 ± 241	203 ± 158	0.293
Alcohol (g ethanol/wk)	113 ± 186	94 ± 186	102 ± 141	110 ± 156	145 ± 243	0.018
Fatty acid intakes through fish and seafood (mg/d)^c						
EPA	448 ± 317	210 ± 109	301 ± 91	442 ± 130	834 ± 366	<0.001
DPA	124 ± 99	49 ± 27	79 ± 28	117 ± 36	249 ± 114	<0.001
DHA	772 ± 538	341 ± 149	532 ± 141	773 ± 195	1435 ± 618	<0.001
EPA + DHA	1220 ± 847	551 ± 253	833 ± 225	1215 ± 310	2269 ± 968	<0.001
Contaminant intakes^c (μg/kg bw/wk)						
Total arsenic	84 ± 63	67 ± 60	66 ± 48	82 ± 48	122 ± 75	<0.001
Inorganic arsenic	0.66 ± 0.68	0.45 ± 0.33	0.51 ± 0.33	0.62 ± 0.53	1.06 ± 1.06	<0.001
Methylmercury	1.51 ± 1.17	0.95 ± 0.60	1.14 ± 0.59	1.60 ± 0.91	2.32 ± 1.68	<0.001
Age ^c (y)	46 ± 14	41 ± 14	44 ± 14	48 ± 15	49 ± 12	0.002
Body mass index ^c (kg/m ²)	24 ± 4	24 ± 4	24 ± 4	24 ± 4	24 ± 4	0.581
Women, n (%)	281 (74%)	75 (79%)	68 (69%)	70 (75%)	68 (71%)	0.471
Socioeconomic status, n (%)						0.319
High	149 (39%)	27 (28%)	42 (43%)	42 (45%)	38 (40%)	
Middle	121 (32%)	36 (38%)	27 (27%)	29 (31%)	29 (30%)	
Low	112 (29%)	32 (34%)	29 (30%)	23 (24%)	28 (30%)	
Tobacco status, n (%)						0.349
Never-smoker	193 (51%)	43 (45%)	52 (53%)	44 (47%)	54 (56%)	
Ex-smoker	71 (18%)	17 (18%)	16 (16%)	21 (23%)	17 (18%)	
Light-smoker (<20 cigarettes/d)	83 (22%)	20 (21%)	23 (24%)	23 (25%)	17 (18%)	
Heavy-smoker (>20 cigarettes/d)	35 (9%)	15 (16%)	7 (7%)	5 (5%)	8 (8%)	

^a Low (<105 g/wk; <1 meal/wk), moderate (105–180 g/wk; 1 meal/wk), high (180–315 g/wk; 1–2 meals/wk), very high (>315 g/wk; >2 meals/wk).

^b Significance of the tests.

^c mean ± standard deviation.

^d Mackerel (*Scomber scombrus*), Salmon (*Salmo salar*), Herring (*Clupea harengus*), Sardine (*Sardina pilchardus*), Swordfish (*Xiphias gladius*), Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), Anchovy (*Engraulis encrasicolus*), Seabream (*Sparus aurata*), Emperor (*Hoplostethus atlanticus*).

^e Goatfish (*Mullus surmuletus*), Scorpionfish (*Scorpaena scrofa*), Seabass (*Dicentrarchus labrax*), Angler fish (*Lophius piscatorius*), Catshark (*Scyliorhinus canicula*), Cod (*Gadus morhua*), Common dab (*Limanda limanda*, *Microstomus kitt*), Plaice (*Pleuronectes platessa*), Grenadier (*Coryphaenoides rupestris*), Gurnard (*Aspitrigla cuculus*), Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*), Hake (*Merluccius merluccius*), John-dory (*Zeus faber*), Ling (*Molva molva*), Pollack (*Pollachius pollachius*), Pout (*Trisopterus luscus*), Ray (*Raja species*), Saithe (*Pollachius virens*), Sole (*Solea solea*), Tuna (*Thunnus thynnus*), Whiting (*Merlangius merlangus*), Abalone (*Haliotis tuberculata*), Calico scallop (*Chlamys varia*), Carpet shell (*Ruditapes decussates*), Clam (*Mercenaria mercenaria*), Cockle (*Cerastoderma edule*), Common periwinkle (*Littorina littorea*), Crab (*Cancer pagurus*), Cuttlefish (*Sepia officinalis*), Donax clam (*Donax Trunculus*), Great scallop (*Pecten maximus*), Hard clam (*Venus verrucosa*), Limpet (*Patella vulgata*), Lobster (*Homarus gammarus*), Mussel (*Mytilus edulis*), Octopus (*Octopus vulgaris*), Oyster (*Crassostrea gigas*), Queen scallop (*Aequipecten opercularis*), Scampi (*Nephrops norvegicus*), Sea urchin (*Paracentrotus lividus*), Shrimp (*Palaemon serratus*), Slipper-lobster (*Scyllarus arctus*, *Scyllarides latus*), Spider-crab (*Maia squinado*), Spiny-lobster (*Palinurus mauritanicus*), Squid (*Loligo vulgaris*), Swimcrab (*Portunus puber*), Whelk (*Buccinum undatum*).

saponified (NaOH, 0.5 M in methanol, 70 °C, 30 min) and converted into FA methyl esters (FAME) (BF₃, 14% in methanol, 70 °C, 15 min). FAME was extracted with pentane, the solvent was evaporated to dryness and FAME was dissolved in hexane (200 μL). Gas chromatography was

performed (Agilent 9870N fitted with an autosampler), injection were done in split mode (ratio: 1/10, 260 °C, 1 μL). Temperature gradient started at 150 °C and raised at 1.5 °C/min to 250 °C for 5 min. Capillary column was a BPX70 (SGE, length: 30 m, internal diameter: 250 μm,

stationary phase thickness: 0.25 μm). Helium was used as carrier gas with a constant flow (1 mL/min). Detector was a flame ionization detector (260 $^{\circ}\text{C}$, hydrogen: 40 mL/min, air: 450 mL/min). FA were identified by comparison of their retention time with standard FAME. Amounts were calculated using identified FAME.

Ethics

The protocol was approved in 2004 by the French consultative committee for protection of humans in biomedical research (CHU Henri Mondor, Créteil, France). All subjects gave informed consent.

Statistical analysis

Quartiles of HFF consumption were considered: low (<105 g/wk; <1 meal/wk), moderate (range, 105–180 g/wk; 1 meal/wk), high (range, 180–315 g/wk; 1–2 meals/wk), and very high consumers (>315 g/wk; >2 meals/wk).

Relationships between RBC FA contents (EPA, DHA, EPA + DHA) and intakes (EPA, DHA, EPA + DHA, HFF) were described by multivariate linear regressions, adjusted for age, sex, study area, tobacco status, SES, other seafood intake, meat intake, meat product (ham, sausage...) intake, and alcohol consumptions. Since BMI was not associated with RBC FA, it could not be suspected as a confounder [28] and was therefore not adjusted for. Restricted cubic spline (RCS) functions were used to characterize dose-response associations between RBC FA contents and continuous variables [29–31], and to minimize residual confounding for continuous confounders. Continuous confounders were included into the model with RCS functions with 3 knots located at the 5th, 50th, and 95th percentiles if linearity assumption was not assumed (P for non-linear association < 0.10). For relevant continuous variables (EPA, DHA, EPA + DHA, and HFF intakes), RCS functions were used with 3 knots (located at 5th, 50th, and 95th percentiles), 4 knots (5th, 25th, 75th, and 95th percentiles), or 5 knots (5th, 25th, 50th, 75th, and 95th percentiles) according to Akaike information criteria. If the overall association with RBC FA contents was significant (the null hypothesis being no association between RBC FA contents and the continuous variable), the linearity of the association was tested (the null hypothesis being a linear association between RBC FA contents and the continuous variable).

Continuous variables ($\log_{10}$ -normalized for meat products, other seafood, and alcohol consumption) were compared between quartiles of HFF consumption with parametric Tukey tests, and Chi-square or Fisher tests were used for categorical variables.

Data analyses were performed using SAS version 9.1.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Alpha (two-tailed) was set at 5%. The %RCS_reg macro was used for RCS functions [29].

Results

Population characteristics

Subjects were mostly female (74%). Mean ($\pm$ standard deviation) age was 46 ± 14 y; 7% were obese ($n = 27$, BMI > 30 kg/m²), 24% overweight ($n = 93$, BMI between 25

and 30 kg/m²), and 69% were never or ex-smokers ($n = 264$). Two individuals did not consume HFF, but other fishes. On average, 63% of other seafood consumed by the population were lean fish.

Fatty acid intakes

Mean total fish ($P < 0.001$) and other seafood ($P < 0.001$) intakes increased ~ 8 -fold from the first to the fourth quartile of HFF consumption (Table 1). BMI, gender, SES, meat and meat product intakes, or tobacco status did not differ between quartiles, as opposed to age ($P = 0.002$), alcohol intake ($P = 0.018$), n-3 LC-PUFA intakes (EPA, DHA, EPA + DHA, and DPA, $P < 0.001$), and contaminant intakes (arsenic, inorganic arsenic, and MeHg, $P < 0.001$).

Even in the first HFF intake quartile, the mean EPA + DHA reached the recommendation (500 mg/d) [4], contrary to 52 subjects (14%) with accordingly a low FF intake (means 85 ± 47 g/wk, with high EPA + DHA content) as compared to the other subjects (318 ± 224 g/wk).

Blood analysis and RBC FA profile

Lipid profile did not differ between HFF consumption quartiles, although the test with HDL-C was of borderline significance (Table 2). Neither mean RBC EPA nor DPA contents ($P = 0.076$ and 0.672 , respectively) nor mean other FA RBC content significantly differed between quartiles, as opposed to mean RBC DHA or EPA + DHA content ($P = 0.012$ and 0.008 , respectively). Although 64% of individuals exceeded the 4% RBC EPA + DHA content, only 5% exceeded the 8% threshold.

Multivariate linear regression models

Using a 3 knot RCS function, EPA provided by seafood consumption was linearly associated with RBC EPA content (P for overall association = 0.009, P for non-linear association = 0.971) whereas DHA and EPA + DHA intakes were not significantly associated with RBC DHA and EPA + DHA contents. HFF intake was not significantly associated with RBC EPA, as opposed to RBC DHA (P for overall association = 0.031; P for non-linear association = 0.159). Using a 4 knot RCS function, HFF intake was significantly associated with RBC EPA + DHA ($P = 0.021$) (Table 3). Although the test for non-linear association was not significant ($P = 0.147$), the Fig. 1 showed a two-phase dose-response association between HFF and RBC EPA + DHA content with a strong increase for HFF intake lower than 200 g, followed by a much milder increase afterwards. Compared to individuals with no HFF intake, those with 100 g/wk (+0.65%), 200 g/wk (+0.93%), 300 g/wk (+0.93%), and 400 g/wk (+0.93%) had a significantly different mean RBC EPA + DHA content (Table 3).

Sex, tobacco status, study area, SES, age, and alcohol consumption, but not meat, other seafood, and meat product intakes, were significantly associated with RBC EPA + DHA content (Table 3). RBC EPA + DHA was higher in women than men (+0.42%; $P = 0.042$) and lower in heavy (−1.00%; $P = 0.002$) and light-smokers (−0.42%; $P = 0.063$) than in never-smokers. The study area and the SES also

Table 2 Blood parameters and red blood cell fatty acids (RBC FA) according to high fat fish (HFF) consumption.

	Whole population (n = 382)	HFF intake quartiles				P ^a
		Q1 (n = 95)	Q2 (n = 98)	Q3 (n = 93)	Q4 (n = 96)	
Triglycerides ^b (g/L)	1.01 ± 0.89	0.98 ± 0.53	0.95 ± 0.47	0.98 ± 0.59	1.15 ± 1.51	0.987
Total cholesterol ^b (g/L)	2.12 ± 0.39	2.08 ± 0.39	2.09 ± 0.39	2.17 ± 0.41	2.14 ± 0.39	0.392
HDL-cholesterol ^b (g/L)	0.59 ± 0.17	0.56 ± 0.15	0.61 ± 0.15	0.61 ± 0.19	0.60 ± 0.16	0.057
Total cholesterol/HDL-cholesterol ^b	3.80 ± 1.16	3.97 ± 1.19	3.61 ± 0.97	3.84 ± 1.16	3.82 ± 1.35	0.163
LDL-cholesterol ^b (g/L)	1.34 ± 0.35	1.34 ± 0.36	1.30 ± 0.34	1.38 ± 0.37	1.34 ± 0.33	0.443
RBC FA ^b (% total FA)						
C16:0	20.8 ± 2.4	20.9 ± 2.4	20.7 ± 2.2	20.8 ± 2.6	20.9 ± 2.5	0.994
C18:0	24.8 ± 6.4	24.3 ± 6.7	25.3 ± 6.9	24.6 ± 6.2	25.1 ± 6.1	0.543
Total SFA	47.9 ± 7.9	47.5 ± 8.3	48.2 ± 8.1	47.7 ± 7.4	48.3 ± 7.7	0.780
C18:1 n-9	14.6 ± 2.9	14.9 ± 2.7	14.4 ± 2.9	14.8 ± 3.0	14.5 ± 3.0	0.323
Total MUFA	17.7 ± 3.4	18.0 ± 3.1	17.4 ± 3.6	17.9 ± 3.6	17.5 ± 3.4	0.332
C18:2 n-6 (LA)	11.6 ± 4.0	12.3 ± 4.5	11.3 ± 3.9	11.5 ± 3.6	11.3 ± 3.9	0.237
C20:4 n-6 (AA)	11.4 ± 3.3	11.4 ± 3.5	11.6 ± 3.1	11.4 ± 3.4	11.3 ± 3.1	0.972
Total n-6 PUFA	27.3 ± 5.4	28.1 ± 6.1	27.3 ± 5.1	27.1 ± 5.2	26.7 ± 5.1	0.139
C18:3 n-3 (ALA)	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.525
EPA	0.74 ± 0.37	0.66 ± 0.30	0.71 ± 0.31	0.79 ± 0.44	0.81 ± 0.40	0.076
DPA	1.70 ± 0.61	1.63 ± 0.59	1.73 ± 0.60	1.71 ± 0.66	1.73 ± 0.60	0.672
DHA	4.03 ± 1.66	3.53 ± 1.44	4.10 ± 1.67	4.22 ± 1.74	4.27 ± 1.72	0.012
EPA + DHA	4.77 ± 1.88	4.19 ± 1.61	4.81 ± 1.87	5.02 ± 1.96	5.08 ± 1.96	0.008
Total n-3 PUFA	6.7 ± 2.3	6.1 ± 2.1	6.8 ± 2.3	7.0 ± 2.5	7.0 ± 2.4	0.023
LA/ALA	61.3 ± 35.9	60.8 ± 34.5	62.4 ± 46.7	62.2 ± 31.0	60.5 ± 30.0	0.895
Total n-6/n-3 PUFA	4.6 ± 1.7	5.1 ± 1.8	4.5 ± 1.6	4.4 ± 1.8	4.3 ± 1.7	<0.001

^a Significance of the tests.^b Mean ± standard deviation.

affected the RBC EPA + DHA content (Table 3). Age was non-linearly associated with RBC EPA + DHA ($P = 0.018$), with an increase in RBC EPA + DHA for increasing ages until ~55 y, and a decrease afterwards. There was no significant interaction between age and HFF intake ($P = 0.36$).

Discussion

Our main finding is that the optimal HFF intake in the studied population is ~200 g since RBC EPA + DHA reached a plateau thereafter.

The proportions of individuals exceeding the 8% or 4% RBC EPA + DHA content (5% and 64%, respectively) were close to those observed in an American study [19] on the impact of frequent fish intake on RBC FA content (9% and 56%, respectively).

However, our results should be compared to others with caution. Most studies on fish consumption and biomarkers considered plasma or serum instead of RBC [32–34]. Plasma is a good short-term biomarker of fish or EPA + DHA intake, whereas RBC is an accurate, longer-term biomarker [9,35], and therefore is relevant for investigating usual consumption. Further, in studies on RBC n-3 FA content, subject characteristics and studied parameters often differed from ours: subjects were out- or hospitalized-patients [36,37], or less-frequent fish-consumers [16,19], and parameters were fish consumption frequency [19], or EPA + DHA intake adjusted for total FA intake [18]. Nevertheless, our results showing a positive association between HFF intake and RBC DHA and EPA + DHA contents are in line with previous results [16,17,19].

For ages lower than ~55 y, RBC EPA + DHA content was positively associated with age, in accordance with the literature [17–19,37], regardless of the increase in fish intake with age. Whatever the quartile of intakes, the sex ratio did not differ. The higher RBC EPA + DHA in women is consistent with previous observations [19,36]. Conversion of ALA to EPA and DHA in humans is low but greater in women than in men, probably due to the upregulation of the FA desaturation and elongation pathway by oestrogen [38].

BMI was negatively associated with RBC EPA + DHA in some [19] but not all studies [18]. The positive association of alcohol intake with RBC EPA + DHA content in our model is concordant with the literature [17,37]. Meat consumption may contribute to n-3 LC-PUFA intakes. However, in our fish-consumers, meat or pork butchery intakes were not associated with RBC EPA + DHA content.

Compared with a high SES, a low SES and to a lesser extent a middle SES were negatively associated with RBC EPA + DHA content. This is concordant with previous observations suggesting the lower knowledge of health in lower SES people, the high cost of healthy foods, and their limited availability in socioeconomically disadvantaged neighborhoods [39].

The triglyceride lowering effect (the most documented n-3 PUFA effect on blood parameters) [8,40], had been mainly observed in intervention studies in patients and hypertriglyceridemic subjects. In contrast, our subjects had normal (low) plasma triglyceride levels, which may explain that no difference was observed between quartiles.

In our study, when considering total seafood consumption, RBC EPA was linearly associated with EPA intake whereas RBC DHA was not associated with DHA intake, which

Table 3 Differences in mean red blood cell EPA + DHA content (% total fatty acids).

	Difference	95% Confidence interval	P, overall association	P, non-linear association ^a
High fat fish intake			0.021	0.147
0 g/wk	0			
100 g/wk	+0.65	[0.08;1.22]		
200 g/wk	+0.93	[0.20;1.66]		
300 g/wk	+0.93	[0.26;1.60]		
400 g/wk	+0.93	[0.29;1.58]		
500 g/wk	+0.99	[0.34;1.63]		
Study area				
Lorient	0			
Le Havre	+0.76	[0.29;1.22]	0.002	
La Rochelle	+1.30	[0.86;1.74]	<0.001	
Toulon	−0.51	[−0.95;−0.06]	0.026	
Women vs. men	+0.42	[0.02;0.83]	0.042	
Tobacco status				
Never-smoker	0			
Ex-smoker	−0.18	[−0.62;0.25]	0.408	
Light-smoker	−0.42	[−0.86;−0.02]	0.063	
Heavy-smoker	−1.00	[−1.62;−0.37]	0.002	
Other seafood intake			0.920	0.939
500 g/wk	0			
600 g/wk	−0.01	[−0.07;0.04]		
700 g/wk	−0.02	[−0.12;0.08]		
Socioeconomic status				
High	0			
Middle	−0.46	[−0.84;−0.08]	0.019	
Lower	−0.68	[−1.09;−0.27]	0.001	
Alcohol consumption (g eth/wk)			0.022	0.043
0 (0 drink/d)	0			
70 (1 drink/d)	+0.63	[0.17;1.09]		
140 (2 drinks/d)	+0.72	[0.21;1.24]		
Age			0.018	0.031
20 y	−0.62	[−1.07;−0.18]		
35 y	0			
50 y	+0.32	[0.09;0.55]		
75 y	−0.05	[−0.62;0.71]		
Meat intake			0.578	0.566
0 g/wk	0			
150 g/wk	−0.08	[−0.27;0.11]		
300 g/wk	−0.16	[−0.54;0.21]		
Meat product intake			0.219	0.182
0 g/wk	0			
150 g/wk	−0.71	[−1.53;0.10]		
300 g/wk	−0.82	[−1.74;0.10]		

^a For exposures included using cubic spline function.

could explain the absence of association between EPA + DHA intake and RBC content. However, observational or interventional studies reported that the relation between intake and FA content in total RBC or RBC membrane is more robust for EPA than for DHA, probably due to different metabolic compartmentalization and turnover [41–44].

Although EPA intake had a linear effect on RBC EPA, HFF intake had no effect on RBC EPA, suggesting that lean fish

consumption may also impact RBC EPA, as previously reported [17]. This could be due to the high variability in EPA concentrations between fish species [24]. Conversely, HFF intake significantly increased RBC DHA content but non-linearly, whereas DHA intake has no significant effect. This may be due to the saturation of the DHA incorporation in RBC membrane [42–44]. RBC EPA + DHA content does not usually exceed 13% [16–18]. This is supported by our

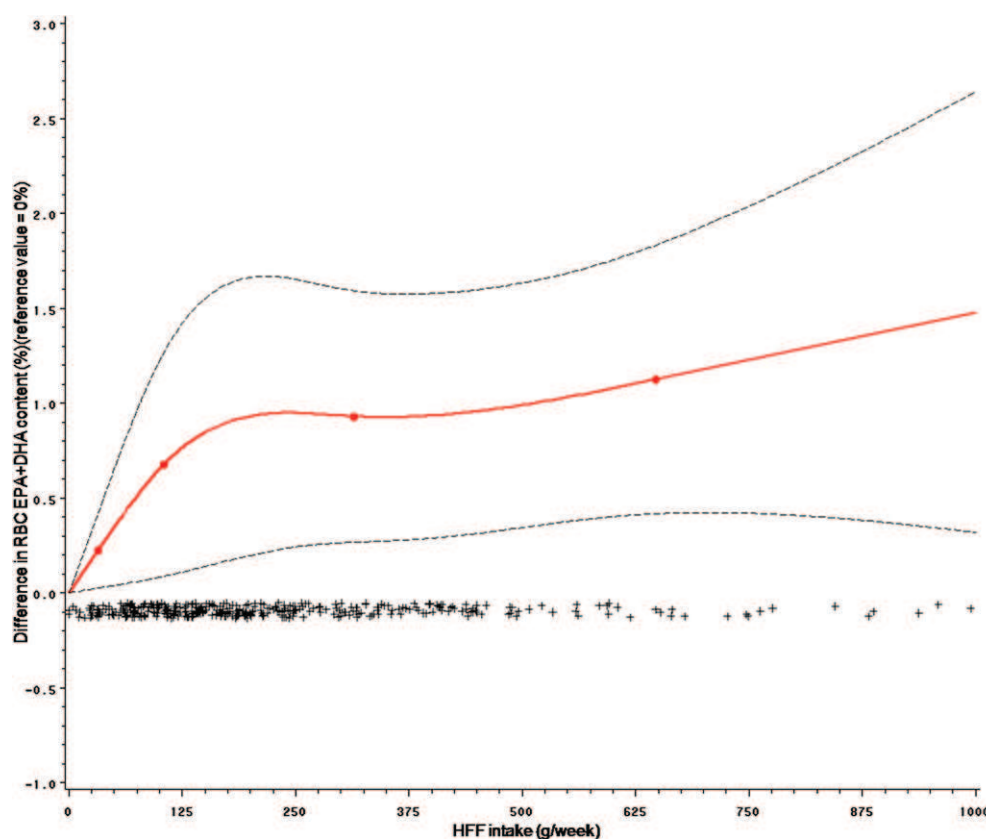


Figure 1 Association between red blood cell (RBC) EPA + DHA content and high fat fish (HFF) intake (in g/week). Smooth line shows the estimation of the difference in RBC EPA + DHA content when using 0 g/week as the reference value; dashed lines represent its lower and upper CI; dots represent the knots. Each "+" mark along the bottom axe represents one observed value of HFF intake in g/week.

results suggesting a saturation in RBC EPA + DHA for an HFF intake exceeding 200 g/wk (Table 3, Fig. 1) and the little further cardiovascular benefit seen in observational studies for high fish or EPA + DHA intakes suggesting a threshold of effect [1,45,46]. Furthermore, if RBC could become saturated due to a limited phospholipid pool for FA incorporation, other non saturable lipid pools (such as adipose tissue or liver) could be available for additional incorporation.

It appears that 200 g/wk of HFF intake provides the greatest gain in RBC EPA + DHA, compared to no HFF consumption. Nevertheless, 200 g HFF do neither guarantee to reach the 8% cut-off nor the 4%. Indeed, 37% of subjects consuming 200 g/wk or more were below the 4%-threshold, some subjects being around 2%. The origin of this variability is unclear but may be a different genetic background for FA metabolism.

Furthermore, higher intakes might contribute to a marked decrease in the efficiency of incorporation of n-3 LC-PUFA in RBC and a higher FA catabolism and beta-oxidation [47]. Fish-oil consumption or n-3 PUFA intake accelerates postprandial chylomicron clearance and the use of FA as energy [48]. In addition, EPA, and to a lesser extent DHA, could increase mitochondrial and liver peroxisome beta-oxidation [49,50], which could explain the plateau in RBC FA.

Furthermore, it has been proposed that other factors such as smoking and contaminant exposure may also result in lowering of RBC PUFA concentrations partly due to the activation of oxidative stress pathways.

In this regard, some studies reported an association between smoking status and a lower PUFA [36] or EPA + DHA [37] contents in RBC membrane while no association was observed in others [18,19]. In our study, the negative effect of smoking seemed to increase with tobacco consumption.

In our population, seafood consumption provides large amounts of contaminants, including MeHg, total and inorganic arsenic, and cadmium [25,26,51,52], that have been shown to promote oxidative stress and lipid peroxidation. Mercury has a high affinity for selenium and glutathione and could reduce their bioavailability and jeopardize the antioxidant status [53]. Total As has been proposed to mediate ROS biosynthesis, and inorganic As and Cd have been shown to increase lipid peroxidation by decreasing antioxidant enzyme concentrations and activities [54–57].

Although the peroxidation due to contaminant exposure is unlikely to quantitatively explain the lowest RBC EPA + DHA contents, the biological levels in our population, especially the MeHg concentrations, were reaching levels significantly associated with the risk of CVD and death from CVD [53,58].

Conclusion

Based on restricted cubic spline modeling, this work suggests a non-linear relationship between HFF intake and RBC EPA + DHA content in frequent fish-consumers. HFF

intake increases RBC EPA + DHA until ~200 g HFF/wk, and plateaus thereafter. However, this 200 g value needs to be confirmed in other populations. Intakes higher than 200 g seem not to be warranted, and may largely contribute to increase exposure to contaminants, including trace elements but also dioxins or polychlorobiphenyls. The level of contaminant remains also a general concern, and warrants limitation of the HFF intake to an optimal intake eliciting maximal protection for CVD risk without over-exposing to contaminants.

Conflict of interest

None of the authors had a personal or financial conflict of interest.

Acknowledgement

This study was supported by grants from the French Ministry of Agriculture and Fisheries.

References

- [1] Mozaffarian D. Fish and n-3 fatty acids for the prevention of fatal coronary heart disease and sudden cardiac death. *Am J Clin Nutr* 2008 Jun;87(6):1991S–6S.
- [2] Hirose K, Takezaki T, Hamajima N, Miura S, Tajima K. Dietary factors protective against breast cancer in Japanese premenopausal and postmenopausal women. *Int J Cancer* 2003 Nov 1;107(2):276–82.
- [3] Timonen M, Horrobin D, Jokelainen J, Laitinen J, Herva A, Rasanen P. Fish consumption and depression: the Northern Finland 1966 birth cohort study. *J Affect Disord* 2004 Nov 1;82(3):447–52.
- [4] ISSFAL. Lipids as determinants of cell function and human health. Proceedings of the 6th congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL). Brighton, United Kingdom, 26 June–1 July 2004. *Lipids* 2004 Nov;39(11):1043–146.
- [5] AFSSA. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Maisons-Alfort: AFSSA; 2010.
- [6] Gebauer SK, Psota TL, Harris WS, Kris-Etherton PM. n-3 fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *Am J Clin Nutr* 2006 Jun;83(Suppl. 6):S1526–35.
- [7] Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, Franch HA, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation* 2006 Jul 4;114(1):82–96.
- [8] Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002 Nov 19;106(21):2747–57.
- [9] Arab L. Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr* 2003 Mar;133(Suppl. 3):925S–32S.
- [10] Harris WS, Von Schacky C. The omega-3 index: a new risk factor for death from coronary heart disease? *Prev Med* 2004 Jul;39(1):212–20.
- [11] Harris WS. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 2008 Jun;87(6):S1997–2002.
- [12] Harris WS, Pottala JV, Sands SA, Jones PG. Comparison of the effects of fish and fish-oil capsules on the n-3 fatty acid content of blood cells and plasma phospholipids. *Am J Clin Nutr* 2007 Dec;86(6):1621–5.
- [13] Murphy KJ, Meyer BJ, Mori TA, Burke V, Mansour J, Patch CS, et al. Impact of foods enriched with n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on erythrocyte n-3 levels and cardiovascular risk factors. *Br J Nutr* 2007 Apr;97(4):749–57.
- [14] Cao J, Schwichtenberg KA, Hanson NQ, Tsai MY. Incorporation and clearance of omega-3 fatty acids in erythrocyte membranes and plasma phospholipids. *Clin Chem* 2006 Dec;52(12):2265–72.
- [15] Berry C, Montgomery C, Sattar N, Norrie J, Weaver LT. Fatty acid status of women of reproductive age. *Eur J Clin Nutr* 2001 Jul;55(7):518–24.
- [16] Dallongeville J, Yarnell J, Ducimetiere P, Arveiler D, Ferrieres J, Montaye M, et al. Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation* 2003 Aug 19;108(7):820–5.
- [17] Mina K, Fritsch L, Knuiman M. A valid semiquantitative food frequency questionnaire to measure fish consumption. *Eur J Clin Nutr* 2007 Aug;61(8):1023–31.
- [18] Itomura M, Fujioka S, Hamazaki K, Kobayashi K, Nagasawa T, Sawazaki S, et al. Factors influencing EPA+DHA levels in red blood cells in Japan. *In Vivo* 2008 Jan–Feb;22(1):131–5.
- [19] Sands SA, Reid KJ, Windsor SL, Harris WS. The impact of age, body mass index, and fish intake on the EPA and DHA content of human erythrocytes. *Lipids* 2005 Apr;40(4):343–7.
- [20] Andersen LF, Solvoll K, Drevon CA. Very-long-chain n-3 fatty acids as biomarkers for intake of fish and n-3 fatty acid concentrates. *Am J Clin Nutr* 1996 Sep;64(3):305–11.
- [21] Bemrah N, Sirot V, Leblanc JC, Volatier JL. Fish and seafood consumption and omega 3 intake in French coastal populations: CALIPSO survey. *Public Health Nutr*; 2008 Jun 12:1–10.
- [22] LeMoullec N, Deheeger M, Preziosi P, Montero P, Valeix P, Rolland-Cachera M, et al. Validation du manuel-photos utilisé pour l'enquête alimentaire de l'étude SUVIMAX. *Cah Nutr Diet* 1996;31(3):158–64.
- [23] Volatier J. Enquête INCA, individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Paris: Tec&Doc; 2000.
- [24] Sirot V, Oseredczuk M, Bemrah-Aouachria N, Volatier JL, Leblanc JC. Lipid and fatty acid composition of fish and seafood consumed in France: CALIPSO study. *J Food Compos Anal* 2008;21:8–16.
- [25] Sirot V, Guerin T, Volatier JL, Leblanc JC. Dietary exposure and biomarkers of arsenic in consumers of fish and shellfish from France. *Sci Total Environ* 2009 Mar 1;407(6):1875–85.
- [26] Sirot V, Guerin T, Mauras Y, Garraud H, Volatier JL, Leblanc JC. Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France CALIPSO study. *Environ Res* 2008 May;107(1):30–8.
- [27] Eder K, Reichlmayr-Lais AM, Kirchgesner M. Studies on the extraction of phospholipids from erythrocyte membranes in the rat. *Clin Chim Acta* 1993 Oct 15;219(1–2):93–104.
- [28] Hernan MA, Hernandez-Diaz S, Werler MM, Mitchell AA. Causal knowledge as a prerequisite for confounding evaluation: an application to birth defects epidemiology. *Am J Epidemiol* 2002 Jan 15;155(2):176–84.
- [29] Desquilbet L, Mariotti F. Tutorial in biostatistics: dose-response analyses using restricted cubic spline functions in public health research. *Stat Med* 2010;29(9).
- [30] Greenland S. Dose-response and trend analysis in epidemiology: alternatives to categorical analysis. *Epidemiology* 1995 Jul;6(4):356–65.
- [31] Steenland K, Deddens JA. A practical guide to dose-response analyses and risk assessment in occupational epidemiology. *Epidemiology* 2004 Jan;15(1):63–70.
- [32] Welch AA, Bingham SA, Iwe J, Friesen MD, Wareham NJ, Riboli E, et al. Dietary fish intake and plasma phospholipid n-3 polyunsaturated fatty acid concentrations in men and women in the European Prospective Investigation into Cancer-Norfolk United Kingdom cohort. *Am J Clin Nutr* 2006 Dec;84(6):1330–9.

- [33] Philibert A, Vanier C, Abdelouhab N, Chan HM, Mergler D. Fish intake and serum fatty acid profiles from freshwater fish. *Am J Clin Nutr* 2006 Dec;84(6):1299–307.
- [34] Astorg P, Bertrais S, Laporte F, Arnault N, Estaquio C, Galan P, et al. Plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids as biomarkers of their dietary intakes: a cross-sectional study within a cohort of middle-aged French men and women. *Eur J Clin Nutr* 2008 Oct;62(10):1155–61.
- [35] Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Hu FB. Comparison between plasma and erythrocyte fatty acid content as biomarkers of fatty acid intake in US women. *Am J Clin Nutr* 2007 Jul;86(1):74–81.
- [36] Hibbeln JR, Makino KK, Martin CE, Dickerson F, Boronow J, Fenton WS. Smoking, gender, and dietary influences on erythrocyte essential fatty acid composition among patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Biol Psychiatry* 2003 Mar 1;53(5):431–41.
- [37] Block RC, Harris WS, Reid KJ, Sands SA, Spertus JA. EPA and DHA in blood cell membranes from acute coronary syndrome patients and controls. *Atherosclerosis* 2008 Apr;197(2):821–8.
- [38] Burdge GC, Wootton SA. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br J Nutr* 2002 Oct;88(4):411–20.
- [39] Cohen BE, Garg SK, Ali S, Harris WS, Whooley MA. Red blood cell docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid concentrations are positively associated with socioeconomic status in patients with established coronary artery disease: data from the Heart and Soul Study. *J Nutr* 2008 Jun;138(6):1135–40.
- [40] Harris WS. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr* 1997 May;65(5 Suppl.):1645S–54S.
- [41] Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, Penders M, Zegwaard M. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. *J Lipid Res* 1997 Oct;38(10):2012–22.
- [42] Simoens CM, Deckelbaum RJ, Massaut JJ, Carpentier YA. Inclusion of 10% fish oil in mixed medium-chain triacylglycerol-long-chain triacylglycerol emulsions increases plasma triacylglycerol clearance and induces rapid eicosapentaenoic acid (20:5n-3) incorporation into blood cell phospholipids. *Am J Clin Nutr* 2008 Aug;88(2):282–8.
- [43] Brown AJ, Pang E, Roberts DC. Persistent changes in the fatty acid composition of erythrocyte membranes after moderate intake of n-3 polyunsaturated fatty acids: study design implications. *Am J Clin Nutr* 1991 Oct;54(4):668–73.
- [44] Brown AJ, Pang E, Roberts DC. Erythrocyte eicosapentaenoic acid versus docosahexaenoic acid as a marker for fish and fish oil consumption. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1991 Oct;44(2):103–6.
- [45] Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA* 2006 Oct 18;296(15):1885–99.
- [46] Mozaffarian D. Fish, mercury, selenium and cardiovascular risk: current evidence and unanswered questions. *Int J Environ Res Public Health* 2009 Jun;6(6):1894–916.
- [47] Legrand P, Schmitt B, Mourot J, Catheline D, Chesneau G, Mireaux M, et al. The consumption of food products from linseed-fed animals maintains erythrocyte omega-3 fatty acids in obese humans. *Lipids* 2010 Jan;45(1):11–9.
- [48] Qi K, Fan C, Jiang J, Zhu H, Jiao H, Meng Q, et al. Omega-3 fatty acid containing diets decrease plasma triglyceride concentrations in mice by reducing endogenous triglyceride synthesis and enhancing the blood clearance of triglyceride-rich particles. *Clin Nutr* 2008 Jun;27(3):424–30.
- [49] Madsen L, Rustan AC, Vaagenes H, Berge K, Dyroy E, Berge RK. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. *Lipids* 1999 Sep;34(9):951–63.
- [50] Flachs P, Horakova O, Brauner P, Rossmeisl M, Pecina P, Franssen-van Hal N, et al. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. *Diabetologia* 2005 Nov;48(11):2365–75.
- [51] JECFA. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. In: 61st Report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. Geneva, Switzerland: WHO; 2004.
- [52] Sirot V, Samieri C, Volatier JL, Leblanc JC. Cadmium dietary intake and biomarker data in French high seafood consumers. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2008 Jul;18(4):400–9.
- [53] Virtanen JK, Voutilainen S, Rissanen TH, Mursu J, Tuomainen TP, Korhonen MJ, et al. Mercury, fish oils, and risk of acute coronary events and cardiovascular disease, coronary heart disease, and all-cause mortality in men in eastern Finland. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 Jan;25(1):228–33.
- [54] Roy P, Saha A. Metabolism and toxicity of arsenic: a human carcinogen. *Curr Sci* 2002;82(1):38–45.
- [55] Hubs'kyi Iu I, Ersteniuk HM, Briuzhina TS, Zadorina OV [Fatty acid composition of lipids in erythrocytes and blood plasma in cadmium intoxication and its correction with unitiol]. *Ukr Biokhim Zh* 2003 Sep–Oct;75(5):103–5.
- [56] Kalahasthi RB, Rajmohan H, Rajan B, Kumar MK. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and its isoenzymes A & B in workers exposed to cadmium at cadmium plating. *J Occup Med Toxicol* 2007;2:5.
- [57] Jemai H, Messaoudi I, Chaouch A, Kerkeni A. Protective effect of zinc supplementation on blood antioxidant defense system in rats exposed to cadmium. *J Trace Elem Med Biol* 2007;21(4):269–73.
- [58] Salonen JT, Seppanen K, Nyyssönen K, Korpela H, Kauhanen J, Kantola M, et al. Intake of mercury from fish, lipid peroxidation, and the risk of myocardial infarction and coronary, cardiovascular, and any death in eastern Finnish men. *Circulation* 1995 Feb 1;91(3):645–55.

Food and nutrient intakes of French frequent seafood consumers with regard to fish consumption recommendations: results from the CALIPSO study

Véronique Sirot*, Céline Dumas, Jean-Charles Leblanc and Irène Margaritis

ANSES, 27–31 Avenue du Général Leclerc, F-94701 Maisons-Alfort, France

(Received 11 June 2010 – Revised 19 October 2010 – Accepted 5 November 2010)

Abstract

Besides providing *n*-3 fatty acids with nutritional and health benefits, seafood consumption may contribute to the reduction of nutrient prevalences of inadequacy. To evaluate the contributions of seafood and other food groups to nutrient intakes of frequent seafood consumers, food consumption was evaluated through an FFQ on 991 French men and women (18–81 years) consuming seafood at least twice a week. Intakes, prevalence of inadequacies, risks of upper limit excess and food contributions to intakes were assessed for thirty-three nutrients. Mean fat contributions to total energy intakes (38.3 and 39.0% for men and women, respectively) met French recommendations, but mean carbohydrate intakes (40.9 and 39.7%, respectively) were insufficient. Micronutrient inadequacies were lower than in the French general population, the highest being for vitamin C (41.3 and 40.1% for men and women, respectively), vitamin E (35.0 and 35.3% for men and women, respectively) and Mg (37.5 and 25.5% for men and women, respectively). Upper safety limits (USL) were exceeded mostly for Zn (6.2%), Ca (3.7%), retinol (2.0%) and Cu (0.9%). Mean contributions of seafood to vitamin D, B₁₂, I and Se intakes ranged 40–65%. Molluscs and crustaceans significantly contributed to vitamin B₁₂ (13.7%), Cu (11.4%), Fe (11.5%), Zn (8.4%) and I (6.1%) intakes, and canned fish contributed to vitamin D intake (13.4%). Besides fish, contributions of mollusc and crustacean consumption to nutrient intakes should be considered from a public health viewpoint. Consuming seafood at least twice a week induces moderate inadequacies and risks of exceeding USL for some micronutrients, whereas macronutrient intakes remained imbalanced.

Key words: Food consumption: Nutritional intakes: Frequent seafood consumers: FFQ

Fish and other seafood consumption is considered as part of a balanced and healthy diet. Most national recommendations on fish worldwide, including France, are to consume fish at least twice a week, notably, to promote the health benefits of *n*-3 long-chain PUFA, especially EPA and DHA^(1–4). Furthermore, *n*-3 long-chain PUFA may contribute to a protective health effect as regards cardiovascular health⁽⁵⁾, some types of cancers⁽⁶⁾ and neurodevelopment^(7–9). Apart from *n*-3 long-chain PUFA, fish is a good source of proteins⁽¹⁰⁾ and one of the richest food sources of vitamin B₁₂, vitamin A (the second after liver, butter and margarine), and vitamins B₆, D and E⁽¹⁰⁾. Vitamin E mainly comes from vegetable oils but is now often added in farmed-fish feeding for its antioxidant properties. Fish consumption can also provide K, P, Fe and Se^(10,11). Seafood, in particular lean fish and some molluscs, is a good source of iodine⁽¹⁰⁾. In France, shellfish is one of the major sources of Cu (7.05 mg/kg fresh weight) and Zn (65.93 mg/kg)⁽¹¹⁾. Usually, studies on the assessment of nutrient intakes of fish and seafood consumers have mainly focused on PUFA intakes. Micronutrient intakes

through high fish and seafood consumption, although less extensively evaluated, can have key health impacts and might contribute to the reduction of prevalences of inadequacy⁽¹²⁾.

According to the results of the French individual national consumption survey INCA2 (Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2), the mean weekly intake of total seafood (i.e. fish, molluscs and crustaceans) is 217 g in the general adult population^(13,14), almost corresponding to the recommended frequency of twice a week⁽¹⁵⁾. Nevertheless, a part of the population do not consume any seafood at all⁽¹⁴⁾. The French population has been recommended to increase its seafood consumption to counteract potential health disorders associated with inadequate intakes of fatty acids (FA) and other nutrients⁽¹²⁾. However, seafood consumption can be an important source of human exposure to heavy metals (MeHg, Cd and As) and persistent organic pollutants (dioxins, polychlorinated biphenyls, etc.)^(3,11,16–19).

At the national level, the French Food Safety Agency recently revised lipid and FA intake recommendations⁽²⁰⁾.

Abbreviations: FA, fatty acid; INCA, Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires; RDA, recommended dietary allowance; TEI, total energy intake; USL, upper safety limit.

* **Corresponding author:** V. Sirot, fax +33 1 49 77 38 92, email veronique.sirot@anses.fr

This may lead to a re-evaluation of the fish consumption recommendation, balancing risks and health benefits with regard to intakes of FA but also to other nutrients, notably micronutrients. Therefore, from a public health point of view, it is of high interest to characterise the food and nutrient intakes of a population of consumers already following the recommendation on seafood consumption compared with the general population. In the perspective of a risk–benefit analysis, another issue is to identify the nutrients for which seafood consumption may contribute to the decrease in the prevalence of inadequacies in the population, and nutrients for which possible exceedance of upper safety limits (USL) should be considered.

The present study aims at evaluating the contributions of fish and other seafood and other dietary food groups of the diet to nutrient intakes of French frequent seafood consumers. Their food and nutrient intakes were then assessed considering the nutritional guidelines: recommended dietary allowances (RDA), estimated average requirements and USL.

Methods

Subjects

Dietary data were collected from 991 healthy subjects (710 women and 281 men), aged 18–81 years, who participated in the CALIPSO survey. Women were over-represented owing to other aims of the CALIPSO study in relation to the assessment of contaminant exposure. Subjects were recruited between October and December 2004 and were living in French coastal areas: Le Havre (Upper Normandy/Channel), Lorient (Brittany/North Atlantic Ocean), La Rochelle (Poitou-Charentes/North Atlantic Ocean) and Toulon (Provence-Alpes-Côte d'Azur/Mediterranean Sea). Subjects were recruited in coastal zones, which are

known to concentrate 'high consumers', as confirmed by a study of the French Food Consumption Observatory carried out in 1996 (A Dufour and J-L Volatier, unpublished results). The main inclusion criterion was to be a frequent seafood consumer, defined for France as someone eating seafood at least twice a week. Subject selection has been described elsewhere⁽²¹⁾. The following sociodemographic and anthropometric data were recorded: sex, age, weight, BMI, socio-economic status and current and previous tobacco consumption. Subjects were divided into four categories: never smokers; ex-smokers; light smokers (smoking less than 20 cigarettes/d); heavy smokers (smoking 20 cigarettes/d or more). Socio-economic status was divided into three categories (high, middle and low) according to the current or past occupation of the interviewee or the head of household if higher than the interviewee (see Table 2 for details).

Food intake data

Food intakes were collected by means of a validated twenty-eight-page FFQ containing 201 items and filled in by a trained interviewer. For eighty-three seafoods (fish, molluscs, crustaceans, echinoderms, tunicates and seafood-based dishes), intakes were calculated by combining the recorded consumption frequency of each food with the mean consumed portion size assessed by a validated book of sample photographs⁽²²⁾. Eight frequencies were proposed (from 'never' to 'once a day and more'). Details on species consumptions have been described elsewhere^(19,21). Foods other than seafood were grouped into fifteen groups (Table 1) and 118 subgroups or food items. For each subgroup, recorded consumption frequencies were combined with mean portion sizes from the French national consumption survey INCA1⁽²³⁾ as advised

Table 1. Description of the food groups of the FFQ

Food groups	Food types included in the food groups	Number of single items
Seafood	Fish, molluscs, crustaceans and seafood-based products	83
Breads and cereals	Breads, rusks, breakfast cereals, pastas, semolina and rice	7
Viennese breads, biscuits and cakes	Viennese breads, cakes, biscuits, chocolate products, honey, jams, candies and added sugar	15
Milk and dairy products	Milk, quark, yogurt, cream, ice cream, dairy desserts and cheese	14
Fat and seasoning	Oils, butter, margarine, ketchup, mustard, seasoning, tomato sauce and salt	17
Meat	Beef, veal, mutton, pork and poultry	6
Offal	Offal	6
Meat products	Ham, pâté, sausages, bacon, etc.	6
Vegetables	Legumes, mushrooms, tomato, beans, green and leafy vegetables and starchy tubers except potatoes	9
Fruits	Dried fruit, red berries, citrus fruit, melon, banana, apple, kiwi, stewed fruit, canned fruit, etc.	11
Potatoes	Potatoes including French fries and mashed potatoes	4
Beverages (excluding water)	Fruit juice, syrup, alcoholic beverages, coffee, tea, infusion and fizzy non-alcoholic drinks	12
Pizzas, quiches and sandwiches	Pizzas, quiches, burgers, sandwiches and stuffed pasta	6
Water	Water	3
Soups	Soups	2

in the literature⁽²⁴⁾. The INCA1 and INCA2 cross-sectional surveys were conducted from 1998 to 1999 and from 2006 to 2007, respectively, and designed to assess the food intakes of a representative sample of the French adult population (INCA1, *n* 1918; INCA2, *n* 2624).

Supply and demand are known to have an impact on the seasonality of food consumption, and to lead to a declaration bias especially for fruits and vegetables^(25,26). We considered the subjects who reported their fruit and vegetable consumption corresponding to their period of availability. To compensate for it, fruit and vegetable intakes were weighted by the period of availability to assess monthly consumption^(25,27): dry fruit, banana, stewed fruit, pulses, beans, peas, carrots, turnip, radish, beetroot, cauliflower, broccoli, artichoke, mushrooms (12 months/12); leek, onion, asparagus, apple, pear (10 months/12); salads, chicory, spinach: 8 months/12; orange, mandarin, grapefruit, tomato (5 months/12); courgette (zucchini), aubergine, pepper (4 months/12); red fruit, melon, watermelon, pineapple, kiwi (3 months/12); apricot, peach, nectarine, grape, plum, cherry (2 months/12).

Nutrient intakes

Intakes were assessed for total energy and thirty-three nutrients: total carbohydrates, starch, sugars, proteins, total lipids, PUFA, MUFA and SFA, fibres, Ca, Cu, Mg, Na, K, Fe, I, Mn, P, Se, Zn, retinol, β -carotene, total vitamin A, and vitamins B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₉, B₁₂, C, D and E.

In order to assess the composition of each food item of the FFQ, they were matched to the items of the French nutrient database⁽¹⁰⁾ used for the INCA2 survey⁽¹³⁾. One FFQ item corresponded to at most thirty-one items of the CIQUAL database. The nutrient concentrations of each FFQ item were calculated as the mean concentration of the corresponding food items from the CIQUAL nutrient database, weighted by their consumption in the general French adult population⁽¹³⁾. It was then hypothesised that the relative contribution of each food item in the consumption level of one food group of the FFQ was not significantly different in our surveyed population and the general one. The concentration of each nutrient was calculated according to the following formula:

$$C_{i,j} = \sum_{k=1}^n (C_{i,j,k} \times P_{i,k} / k),$$

where $C_{i,j}$ is the concentration of nutrient j in the FFQ food item i (g, mg or $\mu\text{g}/100\text{ g}$ fresh weight); n is the number of correspondences between the nutrient database and the FFQ food item i (1–31); $C_{i,j,k}$ is the concentration of nutrient j in each food k of the nutrient database corresponding to the FFQ food item i (g, mg or $\mu\text{g}/100\text{ g}$); $P_{i,k}$ is the consumption part of the food k in the general adult population, k varying between 1 and n foods corresponding to i .

As the French food composition database did not contain all marine species, the USDA National Nutrient

Database for Standard Reference enabled us to complete 26% of the missing composition data, giving priority to species from the Atlantic Ocean⁽²⁸⁾.

To estimate individual nutrient intakes, consumption of each of the 198 food items was combined with the mean calculated concentration, and summed to calculate total intakes, according to the following formula:

$$I_j = \sum_{i=1}^m (C_{i,j} \times CL_i / 100),$$

where I_j is the intake of nutrient j for the subject considered (g, mg or $\mu\text{g}/\text{d}$); $C_{i,j}$ is the calculated concentration of nutrient j in the FFQ food item i (g, mg or $\mu\text{g}/100\text{ g}$); m is the total number of food items consumed in the FFQ; CL_i is the consumption level of the item i by the subject (g/d).

The nutrient intake through water consumption was considered to be equal to that of the general population. As water consumption is poorly assessed in the FFQ, mean Ca, Mg and Na intakes through water consumption from the French Total Diet Study⁽¹¹⁾ were added to the intakes of each subject.

The mean contribution of each food group to the total intake of each nutrient was calculated by the following formula:

$$K_{i,j} = \prod_{\text{all subjects}} (I_{j,i} / TI_j) \times 100,$$

where $K_{i,j}$ is the contribution of the food group i to the intake of the nutrient j (%); $I_{j,i}$ is the intake of nutrient j through the consumption of the food item i (g, mg or $\mu\text{g}/\text{d}$); TI_j is the total intake of nutrient j for the subject concerned (g, mg or $\mu\text{g}/\text{d}$).

Data analysis

Food intakes of men and women are presented separately – as recommendations are often different for both sexes – and expressed as means and standard deviations. For nutrient intakes, a descriptive statistical analysis was performed, and intakes are expressed as means and standard deviations, and as 25th and 95th percentiles for low and high intakes, respectively. The percentages of subjects exceeding the nutrient upper limits (USL) for when established at the European level⁽²⁹⁾, were calculated. The prevalence of inadequate intake was calculated as the percentage of men and women whose intake is under the estimated average requirements, as described elsewhere⁽³⁰⁾: $0.77 \times \text{RDA}$ for all nutrients, except for Mg, vitamins B₆ and B₁₂ (estimated average requirements = $0.83 \times \text{RDA}$), for folate (estimated average requirements = $0.71 \times \text{RDA}$) and for vitamin D due to endogenous synthesis (approach not applicable) as its synthesis through solar exposure of the skin should be the main source of vitamin D. French RDA⁽³¹⁾ and other French published reference values^(20,32,33) have been used. For each sex, minimum and maximum recommended values (if existing) for the age span studied (18–81 years) were considered.

Parametric χ^2 and non-parametric Fisher tests were used to compare categorical variables between sexes.

Mean food and nutrient intakes were first compared between women and men in our survey, and then, for each sex, between our survey and the general adult population from INCA2⁽¹³⁾, using Student's *t* tests.

Potential under- and over-reporters were identified using the Goldberg cut-off value for energy intake^(34,35). BMR for each subject was calculated by the Schofield equations, using individual age, sex, height and weight⁽³⁶⁾. The coefficient for intra-individual variation included in these equations was considered equal to zero as the reporting method was an FFQ. Of the subjects, 14 and 27% were identified as potential under- or over-reporters, respectively: 20 and 12% of under-reporters, and 19 and 30% of over-reporters among men and women, respectively. Nevertheless, they were not excluded from the study to keep the potential false over-reporters (e.g. people eating more) or false under-reporters (e.g. people who were on a diet), notably for the calculation of the percentages of intake inadequacies and exceedance of the USL.

Alpha (two-tailed) was set at 5%. Adjustments were performed to compensate for the multiple *t* tests: $\alpha' = \alpha / \text{number of tests}$. Data analyses were performed using the Statistical Analysis System statistical software package version 9.1.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

Ethics

The present study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki, and all procedures involving human subjects were approved by the French consultative committee for protection of human subjects in biomedical research (CHU Henri Mondor, Créteil, France). Written informed consent was obtained from all subjects.

Results

Description of subjects and food consumptions

There were significantly more overweight subjects and smokers among men than women (Table 2). There were

Table 2. Food intakes of frequent seafood consumers
(Mean values, standard deviations, number of subjects and percentages, *n* 991)*

	Men (<i>n</i> 281)				Women (<i>n</i> 710)				<i>P</i>
	Mean	SD	<i>n</i>	%	Mean	SD	<i>n</i>	%	
Age (years)	45	16			45	16			0.5078
Wt (kg)	77	12			63	12			<0.0001
BMI (kg/m ²)	25.1	6.4			23.8	4.3			0.0011
Overweight subjects (25 kg/m ² > BMI > 30 kg/m ²)			97	35			155	22	0.0006
Obese subjects (BMI > 30 kg/m ²)			22	8			63	9	0.5885
Tobacco status									<0.0001
Never smokers			103	37			410	58	
Ex-smokers			61	22			97	14	
Light smokers			64	23			151	21	
Heavy smokers			53	18			52	7	
SES†									<0.0001
High			85	30			255	36	
Middle			74	27			274	39	
Lower			122	43			181	25	
Food groups (g/d)									
Total seafood	176.66	102.67			166.30	97.88			0.1464
Meat	108.29	56.82			98.65	54.30			0.0128
Offal	7.33	14.76			5.84	9.37			0.1168
Meat products	36.20	34.49			31.45	27.42			0.0388
Milk	118	110			126	124			0.3720
Other dairy products	204	141			234	155			0.0038
Fats	46.83	22.94			47.26	25.17			0.8026
Vegetables	124.68	80.24			153.27	97.99			<0.0001
Fruits	164.20	142.07			197.02	150.13			0.0016
Soups	104.66	147.13			147.87	149.57			<0.0001
Potatoes	74.71	63.16			77.74	66.20			0.5087
Pizzas, quiches and sandwiches	57.40	62.54			45.72	47.88			0.0049
Breads and cereals	196.46	76.19			195.24	76.59			0.8207
Viennese breads, biscuits and cakes	87.63	77.23			77.24	66.86			0.0476
Beverages (excluding water)	1686	1477			1401	1299			0.0048

SES, socio-economic status.

* Adjusted α was set as 0.05/15 = 0.003.

† High SES: storekeepers (current or retired), corporate managers, liberal professions (medicine, law, etc.), executives, scientists, engineers and teachers. Middle SES: art or show relative professions, clergy, technical experts, foremen and employees. Low SES: farmers (current or retired), craftsmen, workers, drivers, policemen, militaries, students (living alone) and other non-occupational persons.

more women with a high and middle socio-economic status than men.

The consumer rate was 100% for men and women for each food group. As regards fish, mean intakes suggest average seafood consumption of more than one portion per day. Dietary consumption was not significantly different between men and women except for vegetables ($P < 0.0001$), fruits ($P = 0.0016$) and soups ($P < 0.0001$) that were significantly more consumed by women (Table 2).

Compared with the French general adult population in INCA2, recorded food consumption of women was generally significantly higher in our survey ($P < 0.0001$, not shown), except for fats and condiments, and vegetables for which the consumption was not significantly different. To a lesser extent, in men, consumption of milk and dairy products, meat, and offal was also higher in our survey than in the general population ($P < 0.0001$), whereas consumption of breads and cereals, and vegetables was lower ($P < 0.0001$). The major differences concerned, obviously, total seafood ($P < 0.0001$), but also dairy products other than milk, for which the mean consumption was twice higher in our survey (204 and 234 g/d for men and women, respectively, *v.* 114 and 116 g/d for men and women in the INCA2 study).

Nutrient intakes

Mean energy intake (including alcohol) ranged between 11 800 (SD 8500) kJ/d (2815 (SD 1125) kcal/d) for men and 10 400 (SD 4000) kJ/d (2485 (SD 964) kcal/d) for women *v.* 10 500 (SD 2500) kJ/d (2500 (SD 598) kcal/d) for men and 7800 (SD 1800) kJ/d (1855 (SD 426) kcal/d) for women in INCA2, respectively (Table 3). Standard deviations appeared to be high because FFQ are known to induce high variability and spread distribution, compared with 24 h recall methods, for instance.

The contributions of the three macronutrients to total energy intake (TEI, excluding alcohol) did not meet the nutritional recommendations. Mean fat contribution to energy intakes met the French recommendation, but there was an excess of lipids for 41% of our subjects ($>40\%$ TEI), insufficient mean carbohydrate intake and protein intake reaching high levels especially at the P95. SFA intakes were too high, probably to the detriment of MUFA.

The prevalence of inadequate micronutrient intakes was generally low, notably for I, Se, Zn, Ca, vitamins B₆ and B₁₂ (Table 4). Prevalences of inadequacy were generally similar for men and women, except for Cu, vitamins A and B₁, for which the prevalence was higher in men, and for Fe, for which the prevalence was higher in women. Mean vitamin D intake was lower than the recommended intake for women only.

USL were reached for Zn (6.2% of the subjects), Ca (3.7%), retinol (2%), Cu (0.9%), I (0.2%), Se (0.1%) and vitamin D (0.1%). Generally, the subjects exceeding the

USL for Ca also exceeded the limit for Zn and generally corresponded to the high-energy diets.

Contributions to mean nutrient intakes

Total seafood was the second contributor to PUFA intake after fats and seasonings, before total meat (Table 5). It is mainly attributable to fish (Fig. 1). Total seafood contributions to MUFA and SFA intakes were relatively low (Table 5; Fig. 2). They were the major contributors to I (41.4%, attributable to fish as well as molluscs and crustaceans) and Se intakes (42.9%, mainly attributable to fish). They were also one of the major contributors to Fe intake (15.1% with almost the same contribution of fish as well as molluscs and crustaceans) after total meats (17.1%). They were the second main contributor to Mg and Cu intakes (mainly attributable to molluscs and crustaceans for Cu) and the third for Zn. As regards vitamins, total seafood was the major contributor to vitamin B₁₂ (50.5%, attributable to fish as well as molluscs and crustaceans) and vitamin D (64.7%, attributable to fish as well as canned fish) intake, and the third for vitamin B₆ (17.7%). They were also the third contributor to retinol intakes (10.6%) after milk and other dairy products and the sum of offal and meat products. Of note, total seafood is the third contributor to Na intake after fat and condiments (which include salt) and breads and cereals.

An additional analysis was carried out with a different calculation method for the contribution of each food group. Contributions were not calculated individually but directly based on the mean intakes of the whole population to avoid the influence of potentially high variance of individual contributions. There were no major differences between the results obtained by both calculation methods. More particularly, ranks of seafood for these contributions were the same.

Discussion

To our knowledge, it is the first time that food and intakes of a large range of nutrients have been evaluated for men and women of various ages and who were high seafood consumers. Nevertheless, the nutrient intake calculations included neither dietary supplements nor fortified foods (other than fortified cereals or yogurt considered in the CIQUAL database at the time of the study). In France, almost 20% of adults occasionally or regularly consume dietary supplements, composed of vitamins and/or minerals in more than 50% of cases⁽¹³⁾.

FFQ generally overestimate consumption, compared with a food record for instance⁽³⁷⁾, and particularly if they contain a large number of representative food groups or food items of a given group⁽³⁸⁾. Then, seafood consumption was possibly overestimated as our FFQ contained eighty single items. Nevertheless, an FFQ with large numbers of seafood items can be accurate and

Table 3. Macronutrient, alcohol and water intakes of frequent seafood consumers compared with existing reference intakes (Mean values, standard deviations and percentiles)

	Reco type	Men					Women				
		Reco value	Mean	SD	P25	P95	Reco value	Mean	SD	P25	P95
TEI/d (MJ)	RDA	10.5–11.3	11.8	4.7	8.5	20.6	8.4–7.2	10.4	4.0	7.7	17.9
TEI (wa)			10.6	4.3	7.7	19.0		9.8	3.9	7.2	17.1
Lipids (g/d)			107	45	76	204		102	46	70	185
Lipids (%TEI without alcohol)	RDA	35–40*	38.3	6.3	34.7	48.7	35–40	39.0	6.5	34.8	49.7
MUFA (g/d)			38.0	15.0	27.0	69.4		36.7	16.1	25.4	65.5
MUFA (%TEI without alcohol)	RDA (for oleic acid)	15–20	13.8	3.0	11.9	18.8	15–20	14.2	3.3	12.0	20.2
PUFA (g/d)			15.3	7.3	10.3	27.4		14.7	7.6	9.8	28.8
PUFA (%TEI without alcohol)			5.6	1.8	4.4	8.4		5.7	2.0	4.4	9.5
EPA + DHA (mg/d)	RDA	500	1290	898	409	3747	500	1195	825	337	2779
SFA (g/d)			44.9	22.4	29.4	93.0		42.2	22.5	27.9	82.6
SFA (%TEI without alcohol)	Maximum	12	15.7	3.6	13.1	22.0	12	15.8	3.7	13.3	22.4
Carbohydrates (g/d)			283	160	190	546		253	128	177	473
Carbohydrates (%TEI without alcohol)	RDA	50–55*	40.9	8.7	35.3	56.2	50–55	39.7	8.0	34.8	53.0
Fibre (g/d)	RDA	25–30	18.1	7.8	12.9	33.4	25–30	19.6	7.9	14.4	33.6
Starch (g/d)			132	48	101	219		126	47	95	207
Sugars (g/d)			141	124	78	324		122	100	73	267
Proteins (g/d)			127	42	95	198		121	42	92	197
Proteins (%TEI without alcohol)	RDA	10–27*	20.8	4.1	18.3	27.6	10–27	21.4	4.0	18.8	28.3
Alcohol (g/d)			29.3	42.5	5.7	106.7		8.7	14.1	0.6	37.3
Water (g/d)			2567	1456	1485	5346		2437	1332	1539	4740

Reco, recommendation; P25, 25th percentile; P95, 95th percentile; TEI, total energy intake; RDA, recommended dietary allowance.

* Lipid, carbohydrate and protein recommended intakes were assessed by separate French Food Safety Agency expert committees, and correspond to recommended ranges, optimal intake not being necessarily the middle of the range. For each consumer, their contribution to TEI should be within the ranges.

Table 4. Micronutrient intakes of frequent seafood consumers compared with existing reference intakes and upper limits (Mean values, standard deviations and percentiles and percentages)

	Reco type	Men					Women					Total USL exceedance (%)			
		Reco value	Mean	SD	P25	P95	Inadequacy (%)	Reco value	Mean	SD	P25		P95	Inadequacy (%)	USL
Ca (mg/d)	EAR	693–924	1269	621	865	2510	15.2	693–924	1281	630	886	2409	12.1	2500	3.7
Cu (mg/d)	EAR	1.155–1.54	2.2	1.0	1.5	3.9	23.0	1.155	2.1	0.9	1.5	3.9	7.7	5	0.9
I (µg/d)	EAR	115.5	217	80	159	352	4.6	115.5	208	79	156	359	7.4	600	0.2
Fe (mg/d)	EAR	6.93–7.7	18.2	7.3	13.3	32.1	0.0	6.92–12.32	16.4	6.4	12.1	28.1	18.4		
Mg (mg/d)	EAR	332–348.6	441	176	317	763	37.5	298.8–332	407	157	303	685	25.5		
Mn (mg/d)			3.6	1.5	2.6	6.8			4.1	2.2	2.8	8.2			
P (mg/d)	EAR	577.5–616	1852	637	1388	2994	0.0	577.5–616	1769	646	1344	2915	0.0		
Minimal requirement		390–585	4140	1582	3053	7136		390–585	4010	1449	3068	6729			
Se (µg/d)	EAR	46.2–61.6	89.6	34.0	66.1	155.1	5.3	38.5–61.6	84.9	33.6	61.4	147.9	4.5	300	0.1
Na (mg/d)	Guide value	3149	4456	1422	3462	7352		3149	4272	1497	3384	6849			
Zn (mg/d)	EAR	8.47–9.24	15.8	5.8	11.8	26.7	7.4	7.7–9.24	14.8	5.9	10.7	25.2	5.9	25	6.2
Total vitamin A (µg/d)	EAR*	539–616	1352	1179	762	2808	13.1	462	1312	802	842	2731	3.1		
β-Carotene (µg/d)			2565	1492	1497	5637			3064	1664	1902	6384			
Retinol (µg/d)			924	1120	399	2274			802	698	400	2139		3000	2.0
Vitamin B ₁ (mg/d)	EAR	0.924–1.001	1.5	0.6	1.1	2.6	20.1	0.847–0.924	1.5	0.6	1.1	2.5	7.9		
Vitamin B ₂ (mg/d)	EAR	1.232	2.8	1.3	1.9	5.2	2.8	1.155–1.232	2.6	1.2	1.8	4.8	2.9		
Vitamin B ₃ (mg/d)	EAR	10.78	28.2	11.2	20.1	50.6	0.0	8.47	26.5	10.6	19.4	44.3	0.6		
Vitamin B ₅ (mg/d)	EAR	3.85	7.9	3.5	5.5	14.6	3.9	3.85	7.4	3.1	5.3	13.3	5.2		
Vitamin B ₆ (mg/d)	EAR	1.494–1.826	2.5	0.9	1.8	4.1	10.2	1.245–1.826	2.4	0.9	1.8	3.9	6.3	25	0.0
Vitamin B ₉ (µg/d)	EAR	234.3–284	360.8	153.2	254.1	643.5	19.4	213–284	365.6	144.6	271.0	632.2	12.5		
Vitamin B ₁₂ (µg/d)	EAR	1.992–2.31	12.9	8.2	8.2	26.8	0.0	1.992–2.31	11.7	6.9	7.1	24.3	0.1		
Vitamin C (mg/d)	EAR	84.7–92.4	123	105	62	346	41.3	84.7–92.4	114	89	66	251	40		
Vitamin D (µg/d)	RDA	5–15	5.1	2.8	3.1	11.1	NA	5–15	4.8	3.4	2.8	10.4	NA	50	0.1
Vitamin E (mg/d)	EAR	9.24–38.5†	12.2	5.2	8.4	22.1	35.0	9.24–38.5†	12.4	5.9	8.4	24.1	35.3	300	0.0

Reco, recommendation; USL, upper safety limit; P25, 25th percentile; P95, 95th percentile; EAR, estimated average requirement; RDA, recommended dietary allowance; NA, not applicable.

* Corresponds to the EAR for total vitamin A.

† 38.5 mg/d corresponds to a maximal value defined for elderly (> 75 years) but does not have unanimous support.

Table 5. Mean contribution of each food group to total nutrient intakes of the study population of the CALIPSO survey (*n* 996)

	Total seafood (%)	Total meat (%)*	Milk and dairy products	Fats and condiments (%)	Vegetables and soups (%)	Fruits (%)	Potatoes	Pizzas, quiches and sandwiches (%)	Breads and cereals (%)	Viennese breads, biscuits and cakes (%)	Water and other beverages (%)
Energy	7.6	11.7	17.3	9.6	3.5	5.1	3.1	4.1	17.6†	10.2	10.2
Lipids	7.1	17.5	25.3	25.4†	1.9	2.5	1.6	5.0	3.6	9.4	0.8
MUFA	6.1	21.1	18.9	33.0†	1.5	1.8	1.2	5.2	1.9	8.7	0.7
PUFA	14.4	14.1	6.4	33.0†	4.5	7.6	1.1	4.0	7.2	6.9	0.7
SFA	4.2	16.5	38.2†	18.2	1.1	1.1	1.5	5.1	2.2	11.4	0.8
Carbohydrates	1.4	0.3	8.9	0.7	5.5	9.5	5.8	4.1	35.6†	15.9	12.2
Fibre	0.9	0.3	1.8	1.0	24.2	18.1	7.2	4.1	29.4†	7.8	5.2
Starch	2.1	0.3	0.3	0.4	5.3	1.0	10.6	6.1	64.0†	9.4	0.4
Sugars	0.7	0.4	19.3	1.1	6.5	19.9	0.7	1.1	4.7	23.9†	21.8
Proteins	22.3†	27.3	22.3†	0.3	3.9	1.3	1.4	3.8	11.5	2.8	3.1
Ca	7.3	1.9	54.6†	0.8	6.7	1.5	1.1	4.2	6.2	3.6	12.2
Cu	17.3	11.9	6.6	1.1	10.0	6.9	4.6	1.8	22.2†	5.7	11.8
I	41.4†	5.0	28.9	1.0	3.7	0.9	1.8	2.7	5.3	2.7	6.7
Fe	15.1	17.1†	6.4	1.6	12.5	3.6	2.3	3.4	14.9	7.9	15.0
Mg	14.2	8.9	13.0	2.4	8.7	6.4	3.5	2.3	12.4	4.7	23.4†
Mn	3.8	1.5	2.4	0.8	10.4	12.8	2.7	2.8	30.9†	6.6	25.3
P	17.8	18.4†	29.2	0.8	5.0	2.3	2.5	3.5	10.8	3.6	6.1
K	10.9	12.3	13.9	1.1	12.4	9.2	7.3	2.3	5.8	3.3	21.4†
Se	42.9†	22.0	10.5	1.2	4.6	0.9	0.6	2.3	8.4	2.7	3.9
Na	13.7	10.5	13.6	23.2	9.6	0.1	0.5	5.5	18.5†	3.2	1.7
Zn	15.0	28.4†	24.5	0.5	4.8	2.0	1.6	3.8	10.6	2.6	6.2
β-Carotene	2.2	0.7	4.2	2.7	72.0†	6.3	0.1	2.3	0.1	1.6	7.9
Retinol	10.6	35.1†	33.3	9.4	0.8	0.0	0.6	4.4	0.0	5.0	0.8
Vitamin B ₁	7.4	22.8†	11.3	1.3	9.3	4.9	5.4	4.9	15.8	5.1	11.9
Vitamin B ₂	8.7	16.7	33.4†	0.7	5.1	2.7	1.1	2.7	7.6	3.3	18.0
Vitamin B ₃	19.2	31.6†	3.5	0.4	5.3	2.5	4.3	3.1	11.8	2.5	15.8
Vitamin B ₅	9.4	17.3	20.2†	0.5	8.0	3.8	5.1	2.4	11.1	3.2	19.0
Vitamin B ₆	17.7	21.9†	9.8	0.5	9.7	9.9	7.8	2.5	10.5	3.3	6.2
Vitamin B ₉	4.5	6.6	19.1	0.5	24.2†	9.7	3.0	2.5	13.7	4.0	12.3
Vitamin B ₁₂	50.5†	27.2	14.4	0.1	0.4	0.0	0.1	4.2	1.1	0.9	1.2
Vitamin C	1.3	3.0	2.8	0.6	21.1	25.4	10.3	1.2	2.3	2.7	29.3†
Vitamin D	64.7†	4.3	16.8	2.8	2.5	0.0	0.1	4.2	0.6	3.8	0.2
Vitamin E	14.3	4.7	6.7	36.8†	8.0	7.6	1.1	3.2	7.5	7.6	2.5

* Meat, offal and meat products.

† Values indicate the first contributor to the total intake.

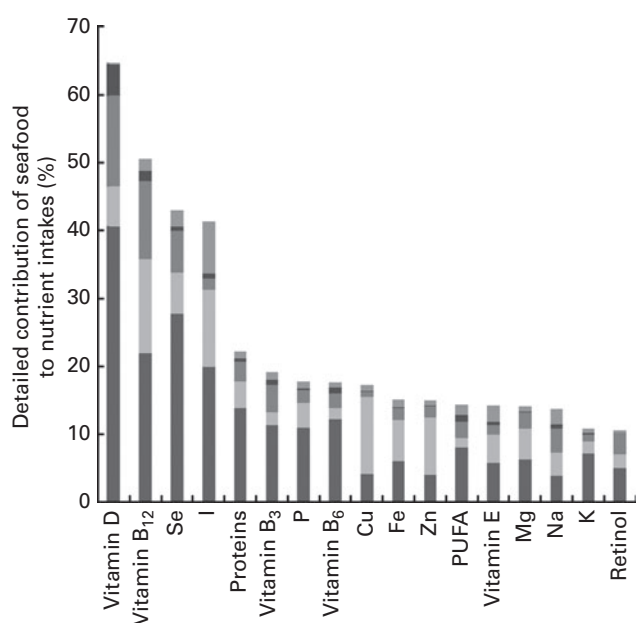


Fig. 1. Mean contribution (%) of each seafood group to nutrient intakes (for total seafood contribution > 10%). ■, Seafood-based dishes; ■, smoked fish; ■, canned fish; ■, molluscs and crustaceans (fresh and frozen); ■, fish (fresh and frozen).

suitable for assessing seafood consumption⁽³⁹⁾, and single items are preferable for food groups of main interest⁽⁴⁰⁾. Overestimation could be due to one or both factors included in our calculations of seafood consumption: recorded consumption frequencies and usual portion sizes. For fish and seafood, portion sizes were assessed using a book of sample photographs, which is more

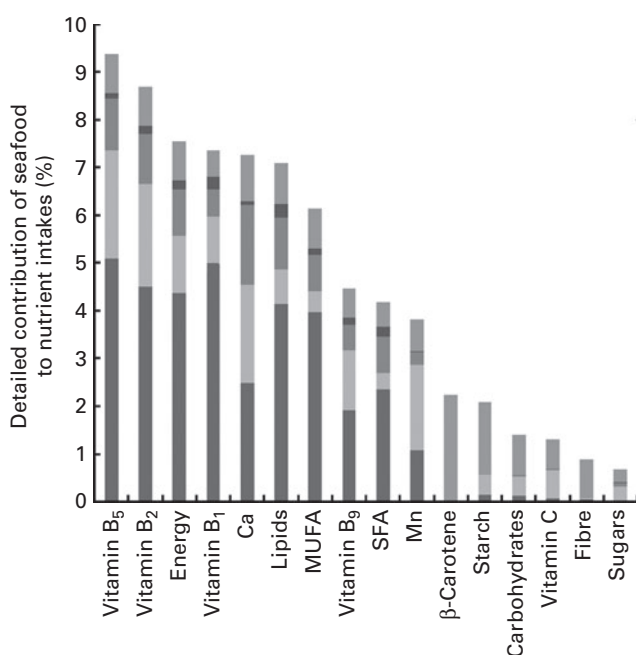


Fig. 2. Mean contribution (%) of each seafood group to nutrient intakes (for total seafood contribution < 10%). ■, Seafood-based dishes; ■, smoked fish; ■, canned fish; ■, molluscs and crustaceans (fresh and frozen); ■, fish (fresh and frozen).

accurate than the use of average portion size⁽⁴⁰⁾. Moreover, for a given subject, the overestimation rate of portion sizes was probably the same whatever the food. On the contrary, the assessment of the consumption frequency was based on the memories of the surveyed subjects which are less accurate⁽³⁸⁾. Moreover, the recording of frequencies may be more accurate for frequent and regular consumption (such as fish in our population) than for occasional ones. Additional analyses of our data have also shown significant associations between seafood consumption and biomarkers of intake or exposure: EPA intake calculated through seafood consumption was associated with EPA concentration in erythrocytes (P for overall association = 0.009)⁽⁴¹⁾. Recorded consumption of total fish or predator fish was also significantly correlated with MeHg blood concentrations (r 0.36 and 0.26, respectively)⁽¹⁶⁾. These data confirm the accurate measurement of habitual fish consumption by our FFQ.

As previously observed⁽⁴²⁾, our fish consumers also eat meat and meat products. There does not seem to be any substitution between meat and seafood in our population.

For foods other than seafood, mean portion sizes from the INCA1 survey were used. Therefore, possible overestimation was probably due to the consumption frequencies rather than portion sizes. Although statistical differences were observed, consumption in our population was in the range of those of the general population of the INCA2 survey^(13,14), except for milk for which consumption was significantly higher in our population (approximately 30–50%, for men and women, respectively) and dairy products (approximately 80–100%) ($P < 0.0001$). However, milk consumption was rather close to the one recorded in the INCA1 survey (120 g/d)^(14,23). The present study was conducted between these surveys, and French milk consumption decreased between them, particularly for women^(13,14). Among dairy products, cheese consumption might be overestimated as our FFQ contained a list of seven items to cover the diversity of French cheese.

Recorded frequencies for seasonal products, such as fruits and vegetables, seemed accurate only for their period of availability, as the weighting of consumption in the present study led to intakes close to the general population. FFQ are valid to assess consumption by adults^(43,44), including those of fruits and vegetables that are generally insufficiently assessed by one or repeated 24 h recall(s)^(38,45). Our FFQ was more detailed, as regards fruits and vegetables, than those of previously reviewed studies⁽³⁸⁾. There was a risk of overestimation, as it consisted of nine items for vegetables (excluding potatoes), eleven items for fruits, one item for fruit juices and one item for soups, each item having a detailed list of examples. However, it may have helped better to cover the diversity of fruit and vegetable consumption in France, and have limited memory issues for consumption

recording or simplification of the food record observed with other methods such as a 24 h recall⁽⁴⁶⁾.

As regards nutrient intakes, the contribution of pizza/quiches/sandwiches, Viennese breads/biscuits/cakes, and total dairy products and meat products to total lipid intake was higher than the contribution of total seafood (Table 5). As these groups are rich in SFA, the unbalanced FA intakes observed in other French surveys^(13,47) were also found in our population in spite of a higher PUFA intake mainly through seafood. This result on PUFA was neither due to feeding practices, seasons, nor to the reproduction period, which can have an impact on lipid content in seafood^(48,49), since this content was assessed from mean composition data. In particular, mean EPA + DHA intake through seafood was 1290 mg/d in men and 1195 mg/d in women (Table 3), which largely exceed the daily 500 mg EPA + DHA recommended intake. However, previous observations showed that 16% of the subjects did not reach this recommendation⁽²¹⁾. This was due to their low mean consumption of fatty fish, i.e. fish with more than 5% of lipid content (52 g/week), compared with subjects reaching this recommendation (mean consumption of oily fish of 277 g/week). Recently, revised French RDA for FA distinguished linoleic acid and α -linolenic acid RDA expressed as a percentage of TEI, and distinguished EPA and DHA expressed separately as mg/d for a total TEI of 8368 kJ (2000 kcal/d)⁽²⁰⁾. As an overall indication, while expressing this last RDA also as a percentage (0.225% TEI) and by summing all the PUFA RDA, the total (5.225% TEI) approximately corresponds to mean PUFA intakes of our subjects. However, detailed PUFA intakes should be assessed after the update of the French CIQUAL composition database, which will provide detailed PUFA food composition.

Moreover, the prevalence of inadequate intakes in our population was low or moderate, the highest being observed for vitamin C (41.3 and 40.1% for men and women, respectively), vitamin E (35.0 and 35.3% for men and women, respectively) and Mg (37.5 and 25.5% for men and women, respectively). Our main goal was to check whether nutrient inadequacies observed in the general population were also observed with our subjects rather than to assess the precise values and their CI. The high prevalences of inadequate intakes (up to 60% and more) observed for some vitamins and minerals in the general population, such as Ca, Mg, Fe or vitamin C^(13,30), were not observed in our seafood consumers. This prevalence was particularly low for vitamins D, B₁₂, I and Se for which seafood, consumed at least twice a week, was a high contributor (mean contribution between 40 and 65%). Nevertheless, the differences between the sexes observed in the general population concerning the prevalence of inadequate Fe intake (higher in women) remained in our population. Previous observations have shown that finfish and shellfish consumed in France accounted for, respectively, 44, 65, 24 and 21% of those nutrient RDA⁽¹²⁾.

However, this study used a different method of calculation from ours, since it used national production data, national import and export data, more sources on nutrient composition data and nutrient contents of unprocessed products. As regards contribution to nutrient intakes, dairy products were the second main contributor to iodine intake after seafood. This result is concordant with observations in the French general population and is due to the use of iodated compounds in feed, animal medicine and udder cleaning solutions⁽⁵⁰⁾. Seafood contribution to iodine intake reached 41.4%, which confirms that seafood is a major source of iodine⁽¹²⁾. Seafood contribution to vitamin D intake in our population was higher than in the French general population (about 40%)^(12,13) or in elderly subjects (54%)⁽⁴⁷⁾ but lower than in a Japanese study (90%)⁽⁵¹⁾. Mean vitamin D intake was also lower than among Norwegian fish consumers⁽⁵²⁾ but higher than among British fish eaters⁽⁵³⁾, as well as Fe and vitamin B₁₂ intakes. Differences between studies on seafood consumers may be explained by composition differences for the same species (due to seasonal variations, geographical origins, etc.), differences in consumed species and/or the ratio between fatty fish and lean fish, but also by the use of fish oil capsules, for example, in the Norwegian population. Se intake is not optimal in the French general population⁽¹³⁾ or in elderly people⁽⁵⁴⁾. Mean intakes in our population were higher than in Finnish seafood consumers⁽⁵⁵⁾ but lower than in a Japanese study⁽⁵⁶⁾. Seafood also contributed to 15% of Zn intakes instead of 3.3% in the general population⁽¹³⁾. Mean intakes of Zn were higher than in the EPIC population of seafood consumers⁽⁵³⁾. In our population, total seafood was also the second contributor to Cu and vitamin E intakes. Therefore, our population had high intakes of antioxidant nutrients (notably vitamin E, Zn, Se and Cu). It is all the more important since our subjects have a relatively high intake of PUFA that are more susceptible to oxidation, and may have had a high intake of contaminants promoting oxidation through seafood consumption. Many subjects were also elderly or smokers, with probably a non-optimal antioxidant status.

As observed in the general population^(13,33), breads and cereals are the main contributors to Na intake (apart from table salt). Due to natural salt content, total seafood contribution is higher than that of dairy and meat products that are among the main contributors among the general population. Therefore, Na intakes seem to exceed the guide value set in France for salt in context of public health policies to reduce added salt consumption.

The percentages of people exceeding the USL were relatively low. Particularly for Ca, the 3.7% of exceedance may be taken with caution, as there may be an overestimation of dairy product intakes. Nevertheless, these percentages were not insignificant insofar as the intake calculations included neither dietary supplements nor fortified foods. The consumption of dietary supplements may indeed increase the risk of exceeding the USL and decrease the prevalence of nutrient inadequacies⁽⁵⁷⁾.

Although the nutritional status of those frequent seafood consumers was not optimal as regards FA and prevalence of inadequate intakes, this diet results in satisfactory intakes of key nutrients without massive excess of USL. Some subgroups have specific needs regarding nutrients largely provided by seafood: vitamin D for elderly or pregnant and lactating women, iodine for pregnant women, antioxidants for elderly people or smokers, B₁₂ for elderly people, Fe for women, etc. To our knowledge, most risk–benefit analyses concerning seafood mainly dealt with MeHg and polychlorinated biphenyls as regards contaminants, and *n*-3 FA as regards nutrients. Vitamin D is rarely considered⁽⁵⁸⁾, as well as other nutrients. Moreover, interactions have been reported between contaminants and/or nutrients provided by seafood such as MeHg and polychlorinated biphenyls, MeHg and Se, or MeHg and *n*-3 long-chain PUFA⁽⁵⁹⁾.

When considering a limited number of components and searching for an optimal consumption, one might miss some specific consumption profiles (in terms of quantities and types of seafood). These profiles could comply with nutritional and toxicological constraints, on the one hand, and meet other nutritional needs, on the other hand. For instance, molluscs and crustaceans are not major contributors to EPA + DHA. Nevertheless, the present results show that they appear interestingly to make a small but significant contribution to Cu, Fe, I, vitamin B₁₂ and Zn intakes. Some of these micronutrients are of public health concern, for instance for which the elderly show inadequate intakes. Consumption of molluscs and crustaceans appears to be interesting to reduce the prevalences of inadequacy for such populations. Nutritional interest as well as relative weights of nutritional needs and risks are not the same according to the age or the physiological status of the target population.

Conclusion

In a population of frequent consumers (more than twice a week), seafood appeared to be a major contributor to key nutrient intakes: mainly PUFA, vitamins B₁₂ and D, Se and I, and, to a lesser extent, Cu, Fe, Mg and Zn. Prevalences of inadequate intake are lower than in the general French population, and percentages of subjects exceeding nutrient USL were low. Moreover, molluscs and crustaceans, usually not taken into account in consumption recommendations, seem, however, to be interesting contributors to key nutrient intakes, whatever the form (fresh, frozen or canned food).

It appears to be important to take into account other nutrients beyond *n*-3 PUFA to provide data to an expert panel in charge of adjusting consumption recommendations according to target populations. Critical issues of deficiencies of target populations as well as toxicity of contaminants provided by seafood should be taken into account for optimal public health.

Acknowledgements

The present study was supported by grants from the French Ministry of Agriculture and Fisheries. There was no conflict of interest. V. S. was the scientific coordinator of the study, analysed the data and wrote the manuscript. C. D. contributed to the analysis of the data and wrote the manuscript. J.-C. L. designed the study. I. M. was in charge of supervising the writing.

References

1. ISSFAL (2007) PUFA recommendations – global recommendations. http://www.issfal.org.uk/index.php?option=com_content&task=view&id=12&Itemid=31
2. Hercberg S (2003) National Nutrition and Health Program. *Arch Pediatr* **10**, Suppl. 1, 54s–56s.
3. SACN (2004) *Advice on Fish Consumption: Benefits & Risks*. London: SACN.
4. Kris-Etherton PM, Harris WS & Appel LJ (2002) Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* **106**, 2747–2757.
5. Hu FB, Bronner L, Willett WC, *et al.* (2002) Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA* **287**, 1815–1821.
6. Hirose K, Takezaki T, Hamajima N, *et al.* (2003) Dietary factors protective against breast cancer in Japanese premenopausal and postmenopausal women. *Int J Cancer* **107**, 276–282.
7. Timonen M, Horrobin D, Jokelainen J, *et al.* (2004) Fish consumption and depression: the Northern Finland 1966 birth cohort study. *J Affect Disord* **82**, 447–452.
8. Albanese E, Dangour AD, Uauy R, *et al.* (2009) Dietary fish and meat intake and dementia in Latin America, China, and India: a 10/66 Dementia Research Group population-based study. *Am J Clin Nutr* **90**, 392–400.
9. Kroger E, Verreault R, Carmichael PH, *et al.* (2009) Omega-3 fatty acids and risk of dementia: the Canadian Study of Health and Aging. *Am J Clin Nutr* **90**, 184–192.
10. AFSSA-CIQUAL (2008) *Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqua 2008 (Ciqua French Food Composition Table Version 2008)*. AFSSA, Maisons-Alfort, www.afssa.fr
11. Leblanc JC, Guerin T, Noel L, *et al.* (2005) Dietary exposure estimates of 18 elements from the 1st French Total Diet Study. *Food Addit Contam* **22**, 624–641.
12. Bourre JM & Paquette PM (2008) Contributions (in 2005) of marine and fresh water products (finfish and shellfish, seafood, wild and farmed) to the French dietary intakes of vitamins D and B₁₂, selenium, iodine and docosahexaenoic acid: impact on public health. *Int J Food Sci Nutr* **59**, 491–501.
13. AFSSA (2009) *Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA2) – Individual and National Study on Food Consumption 2*. Maisons-Alfort: AFSSA.
14. Dubuisson C, Lioret S, Touvier M, *et al.* (2010) Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: results from the INCA surveys. *Br J Nutr* **103**, 1035–1048.
15. Dubuisson C, Lioret S, Gautier A, *et al.* (2006) Comparison of two national food surveys (INCA 1 1998–99 and Health Nutrition Barometer 2002) with regard to five food recommendations of the National Nutrition and Health Program. *Rev Epidemiol Sante Publique* **54**, 5–14.
16. Sirot V, Guerin T, Maudras Y, *et al.* (2008) Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data

- among frequent seafood consumers in France CALIPSO study. *Environ Res* **107**, 30–38.
17. Sirot V, Guerin T, Volatier JL, *et al.* (2008) Dietary exposure and biomarkers of arsenic in consumers of fish and shellfish from France. *Sci Total Environ* **407**, 1875–1885.
 18. Sirot V, Samieri C, Volatier JL, *et al.* (2008) Cadmium dietary intake and biomarker data in French high seafood consumers. *J Expo Sci Environ Epidemiol* **18**, 400–409.
 19. Leblanc JC (2006) *CALIPSO: Fish and Seafood Consumption Study and Biomarker of Exposure to Trace Elements, Pollutants and Omega 3*. Geneva: AFSSA, DGAL, INRA.
 20. AFSSA (2010) *Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras (Opinion of the French Food Safety Agency on the update of French Population Reference Intakes (ANCs) for Fatty Acids)*. Maisons-Alfort: AFSSA.
 21. Bemrah N, Sirot V, Leblanc JC, *et al.* (2009) Fish and seafood consumption and omega 3 intake in French coastal populations: CALIPSO survey. *Public Health Nutr* **12**, 599–608.
 22. LeMoullec N, Deheeger M, Preziosi P, *et al.* (1996) Validation du manuel-photos utilisé pour l'enquête alimentaire de l'étude SUVIMAX (Validation of photographic document used to estimate the amounts of foods eaten by subjects in the SUVIMAX study). *Cab Nutr Diet* **31**, 158–164.
 23. Volatier J (2000) *Enquête INCA, individuelle et nationale sur les consommations alimentaires (INCA, Individual and National Study on Food Consumption)*. Paris: Tec&Doc.
 24. Cade J, Thompson R, Burley V, *et al.* (2002) Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires – a review. *Public Health Nutr* **5**, 567–587.
 25. Joachim G (1997) Supply and demand: a framework for explaining variability in dietary intake and its impact on data. *Nutr Health* **11**, 289–299.
 26. Shu XO, Yang G, Jin F, *et al.* (2004) Validity and reproducibility of the food frequency questionnaire used in the Shanghai Women's Health Study. *Eur J Clin Nutr* **58**, 17–23.
 27. Carrière I, Delcourt C, Lacroux A, *et al.* (2007) Nutrient intake in an elderly population in southern France (POLANUT): deficiency in some vitamins, minerals and omega-3 PUFA. *Int J Vitam Nutr Res* **77**, 57–65.
 28. USDA (2009) USDA National Nutrient Database for Standard Reference. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
 29. EFSA (2006) *Tolerable Upper Intake Levels for Vitamins and Minerals*. Parma: EFSA.
 30. Touvier M, Lioret S, Vanrullen I, *et al.* (2006) Vitamin and mineral inadequacy in the French population: estimation and application for the optimization of food fortification. *Int J Vitam Nutr Res* **76**, 343–351.
 31. Martin A (2001) Nutritional recommendations for the French population. *Sci Aliments* **21**, 348–361.
 32. AFSSA (2007) *Apports en protéines: consommation, qualité, besoins et recommandations (Protein Intake: Dietary Intake Quality Requirements and Recommendations)*. Maisons Alfort: AFSSA.
 33. AFSSA (2002) *Report on Salt: Evaluation and Recommendations*. Maisons-Alfort: AFSSA.
 34. Goldberg GR, Black AE, Jebb SA, *et al.* (1991) Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. *Eur J Clin Nutr* **45**, 569–581.
 35. Black AE (2000) Critical evaluation of energy intake using the Goldberg cut-off for energy intake: basal metabolic rate. A practical guide to its calculation, use and limitations. *Int J Obes Relat Metab Disord* **24**, 1119–1130.
 36. Schofield WN (1985) Predicting basal metabolic rate, new standards and review of previous work. *Hum Nutr Clin Nutr* **39**, Suppl. 1, 5–41.
 37. Rothenberg EM (2009) Experience of dietary assessment and validation from three Swedish studies in the elderly. *Eur J Clin Nutr* **63**, Suppl. 1, S64–S68.
 38. Kim DJ & Holowaty EJ (2003) Brief, validated survey instruments for the measurement of fruit and vegetable intakes in adults: a review. *Prev Med* **36**, 440–447.
 39. Mina K, Fritschi L & Knuiman M (2007) A valid semi-quantitative food frequency questionnaire to measure fish consumption. *Eur J Clin Nutr* **61**, 1023–1031.
 40. Cade JE, Burley VJ, Warm DL, *et al.* (2004) Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation. *Nutr Res Rev* **17**, 5–22.
 41. Sirot V, Dumas C, Desquilbet L, *et al.* (2010) A restricted cubic spline approach to assess the association between high fat fish intake and red blood cell EPA + DHA content. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* (Epublication ahead of print version 26 September 2010).
 42. Barberger-Gateau P, Jutand MA, Letenneur L, *et al.* (2005) Correlates of regular fish consumption in French elderly community dwellers: data from the Three-City study. *Eur J Clin Nutr* **59**, 817–825.
 43. Andersen LF, Johansson L & Solvoll K (2002) Usefulness of a short food frequency questionnaire for screening of low intake of fruit and vegetable and for intake of fat. *Eur J Public Health* **12**, 208–213.
 44. Amanatidis S, Mackerras D & Simpson JM (2001) Comparison of two frequency questionnaires for quantifying fruit and vegetable intake. *Public Health Nutr* **4**, 233–239.
 45. Kristjansdottir AG, Andersen LF, Haraldsdottir J, *et al.* (2006) Validity of a questionnaire to assess fruit and vegetable intake in adults. *Eur J Clin Nutr* **60**, 408–415.
 46. Vuckovic N, Ritenbaugh C, Taren DL, *et al.* (2000) A qualitative study of participants' experiences with dietary assessment. *J Am Diet Assoc* **100**, 1023–1028.
 47. Carrière I, Delcourt C, Lacroux A, *et al.* (2007) Nutrient intake in an elderly population in southern France (POLANUT): deficiency in some vitamins, minerals and ω -3 PUFA. *Int J Vitam Nutr Res* **77**, 57–65.
 48. Khan MA, Parrish CC & Shahidi F (2006) Effects of environmental characteristics of aquaculture sites on the quality of cultivated Newfoundland blue mussels (*Mytilus edulis*). *J Agric Food Chem* **54**, 2236–2241.
 49. Hamre K, Lie O & Sandnes K (2003) Seasonal development of nutrient composition, lipid oxidation and colour of fillets from Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus* L.). *Food Chemistry* **82**, 441–446.
 50. AFSSA (2005) *Évaluation de l'impact nutritionnel de l'introduction de composés iodés dans les produits agroalimentaires (Evaluation the Nutritional Impact of the Introduction of Iodine Compounds in Food Products)*. Maisons Alfort: AFSSA.
 51. Nakamura K, Nashimoto M, Okuda Y, *et al.* (2002) Fish as a major source of vitamin D in the Japanese diet. *Nutrition* **18**, 415–416.
 52. Engeset D, Andersen V, Hjartaker A, *et al.* (2007) Consumption of fish and risk of colon cancer in the Norwegian Women and Cancer (NOWAC) study. *Br J Nutr* **98**, 576–582.
 53. Davey GK, Spencer EA, Appleby PN, *et al.* (2003) EPIC-Oxford: lifestyle characteristics and nutrient intakes in a cohort of 33883 meat-eaters and 31546 non meat-eaters in the UK. *Public Health Nutr* **6**, 259–269.
 54. Ducros V, Faure P, Ferry M, *et al.* (1997) The sizes of the exchangeable pools of selenium in elderly women and their relation to institutionalization. *Br J Nutr* **78**, 379–396.

55. Anttolainen M, Valsta LM, Alfthan G, *et al.* (1996) Effect of extreme fish consumption on dietary and plasma antioxidant levels and fatty acid composition. *Eur J Clin Nutr* **50**, 741–746.
56. Miyazaki Y, Koyama H, Nojiri M, *et al.* (2002) Relationship of dietary intake of fish and non-fish selenium to serum lipids in Japanese rural coastal community. *J Trace Elem Med Biol* **16**, 83–90.
57. Touvier M, Boutron-Ruault MC, Volatier JL, *et al.* (2005) Efficacy and safety of regular vitamin and mineral supplement use in France: results from the ECCA study. *Int J Vitam Nutr Res* **75**, 201–209.
58. Becker W, Darnerud PO & Petersson-Grawé K (2007) *Risks and Benefits of Fish Consumption – A Risk-Benefit Analysis Based on the Occurrence of Dioxin/PCB, Methyl Mercury, n-3 Fatty Acids and Vitamin D in Fish*. Uppsala: National Food Administration.
59. Rice DC (2008) Overview of modifiers of methylmercury neurotoxicity: chemicals, nutrients, and the social environment. *Neurotoxicology* **29**, 761–766.

Abstract

Context. Food provides the nutrients which enable the body to function on a physiological level as well as delivering contaminants that may affect health. From a public health point of view, both aspects must be considered in order to determine optimum food consumption levels. Seafood is an interesting example as it provides n-3 long chain polyunsaturated fatty acids (n-3 LC-PUFA), vitamins and minerals but also methylmercury, arsenic and persistent organic pollutants.

Objective. The aim of this thesis was to determine in what quantities seafood consumption would provide nutritional benefits while minimising the risks linked to food contaminants.

Methods. Analyses were mainly based on data from the Calipso survey conducted among 996 high seafood consumers (at least twice a week) aged 18 and over. Their nutritional intakes and their exposure to contaminants were assessed through a food frequency questionnaire and through biomarker data. This made it possible to select nutrients and contaminants of interest, since seafood contributes significantly to both the intake of nutritional requirements and exposure to nutritional and health risks. The risk/benefit analysis consisted in using an optimization model with constraints to calculate optimum seafood consumption levels. The goal was to optimize nutritional intakes as well as contaminant exposure with the condition being to attain recommended nutritional intakes without exceeding tolerable upper intakes for contaminants and nutrients, while taking into account background intakes.

Results. Among high seafood consumers, the health risk linked to methylmercury and arsenic appeared to be significant. Seafood also appeared to contribute largely to the intake of vitamin D and certain minerals. Moreover, consumption higher than 200 g/week of high fat fish does not seem to imply a higher benefit in terms of cardiovascular health biomarkers when compared with lower consumption. Taking this data into account, an optimum consumption level was calculated that minimises inorganic arsenic exposure and increases vitamin D intake in the general population. In parallel, this consumption level guarantees that the consumer attains the recommended intake for n-3 LC-PUFA, selenium and iodine, while remaining below the tolerable upper intakes for methylmercury, cadmium, dioxins, polychlorobiphenyls, zinc, calcium, and copper. This consumption level is approximately 200 g/week of certain fatty fish species and approximately 50 g/week of lean fish, molluscs, and crustaceans.

Conclusion. Optimum seafood consumption levels providing both nutritional benefit and controlled risk have been calculated. This study highlights the necessity of reducing arsenic exposure and refining results using the model for certain subgroups of the population while taking into account the specificities of these populations.

Keywords. Risk-benefit, public health, food, fish, seafood, n-3 polyunsaturated fatty acids, methylmercury, arsenic.

Résumé

Contexte. L'alimentation apporte à la fois des nutriments nécessaires au fonctionnement physiologique normal de l'organisme et des contaminants susceptibles d'impacter sur la santé. Il convient donc de prendre en compte ces deux aspects dans la détermination des consommations optimales du point de vue de la santé publique. Les produits de la mer représentent un cas d'étude intéressant car ils apportent à la fois des acides gras polyinsaturés oméga 3 à longue chaîne (AGPI LC n-3), des vitamines et des oligoéléments, mais aussi du méthylmercure, de l'arsenic ou encore de polluants organiques persistants.

Objectifs. L'objectif de la thèse était de déterminer dans quelles quantités la consommation de produits de la mer présentait un bénéfice nutritionnel, tout en limitant le risque lié aux contaminants apportés par l'alimentation.

Méthodes. Les analyses ont principalement porté sur les données de l'étude Calipso menée sur 996 forts consommateurs de produits de la mer (au moins deux occurrences par semaine) de 18 ans et plus. Leurs apports nutritionnels et leur exposition aux contaminants ont été estimés à partir du recueil des consommations alimentaires et de biomarqueurs. Ce travail a permis, au regard de la couverture des besoins nutritionnels et des risques nutritionnels et sanitaire, la sélection de nutriments et contaminants pertinents, à l'apport desquels et à l'exposition auxquels les produits de la mer contribuent majoritairement. L'analyse risque-bénéfice a consisté en l'utilisation d'un modèle d'optimisation sous contraintes pour déterminer des consommations optimales de produits de la mer. L'objectif était d'optimiser les apports nutritionnels et l'exposition aux contaminants, sous contrainte d'atteinte des apports nutritionnels conseillés (ANC) et de non dépassement des valeurs toxicologiques de référence (VTR), en tenant compte des apports par le reste du régime.

Résultats. Chez les forts consommateurs de produits de la mer, le risque sanitaire lié à l'exposition aux méthylmercure et l'arsenic inorganique ne sont pas négligeables. Chez ces mêmes consommateurs, les produits de la mer apparaissent également comme contributeurs majeurs d'apport en vitamine D et certains minéraux. Par ailleurs, une consommation de plus de 200 g/sem de poissons très gras n'entraîne pas de bénéfice supplémentaire en termes de biomarqueur de santé cardiovasculaire. Tenant compte de ces éléments, il a été déterminé une consommation dite optimale, permettant à la fois de minimiser l'exposition à l'arsenic inorganique et d'augmenter l'apport de vitamine D en population générale, tout en garantissant l'atteinte de l'ANC pour les AGPI LC n-3, le sélénium et l'iode, le non dépassement des VTR établies pour le méthylmercure, le cadmium, les dioxines et polychlorobiphényles, ainsi que le non dépassement des limites de sécurité établies pour le zinc, le calcium et le cuivre. Cette consommation est de 200 g/semaine environ de certaines espèces de poissons gras et de 50 g/semaine environ de poissons maigres, mollusques ou crustacés.

Conclusion. Une consommation optimale de produits de la mer entraînant à la fois un bénéfice nutritionnel et un risque sanitaire maîtrisé a pu être définie. Il ressort de ce travail la nécessité de réduire les expositions à l'arsenic et d'affiner les résultats en utilisant le modèle pour certaines populations, en tenant compte des spécificités de ces populations.

Mots clés. Risque-bénéfice, santé publique, alimentation, poisson, produits de la mer, acides gras polyinsaturés n-3, méthylmercure, arsenic.