



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

Afssa – Saisine n° 2004-SA-0067

Saisine liée n° 2001-SA-0086

Maisons-Alfort, le 11 juillet 2008

## AVIS

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement de la limite de qualité des nitrates et des nitrites dans les eaux destinées à la consommation humaine

#### Rappel de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 17 avril 2003 par la Direction générale de la santé d'une demande d'avis relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement de la limite de qualité des eaux destinées à la consommation humaine et a donc créé un groupe de travail *ad hoc*. Les paramètres « nitrates » et « nitrites » ont été examinés à partir du mois de septembre 2006. L'association « Eau et rivières de Bretagne » a également saisi l'Afssa sur une demande d'avis similaire.

#### Méthode d'expertise

Le Comité d'experts spécialisés « Eaux » a été consulté les 4 décembre 2007 et 8 janvier 2008. Le Comité d'experts spécialisé « Résidus et contaminants chimiques et physiques » a été consulté le 21 janvier 2008.

#### Contexte

Considérant la valeur guide de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) de 50 milligrammes par litre pour les nitrates ;

Considérant les limites de qualité de 50 milligrammes par litre pour les nitrates et de 0,5 milligramme par litre pour les nitrites dans l'annexe I de l'arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique ;

Considérant l'avis de l'Afssa du 2 décembre 2003 relatif à la fixation de critères de qualité des eaux minérales naturelles et des eaux de source embouteillées permettant une consommation sans risque sanitaire pour les nourrissons et les enfants en bas âge qui indique qu'**au titre de la protection de la ressource**, une valeur guide de 10 milligrammes par litre concernant les nitrates pourrait être fixée au titre du 3<sup>ème</sup> alinéa de l'article 2 de la directive 2003/40/CE du 16 mai 2003 relative aux limites de concentration dans les eaux minérales naturelles ;

Considérant la démarche initiale d'évaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité dans les eaux destinées à la consommation humaine présentée dans le rapport de l'Afssa daté de septembre 2004 ;

Considérant l'évaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité dans les eaux destinées à la consommation humaine concernant les nitrates et les nitrites, développée dans la fiche 19 ;

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

## Argumentaire

### **Concernant les procédés de traitement**

Considérant que des procédés de traitement respectant la réglementation prévue peuvent être mis en œuvre pour diminuer les teneurs en nitrates dans l'eau en sortie de l'unité de production ;

### **Concernant les données de la base SISE-Eaux**

Considérant les données disponibles dans la base SISE-Eaux qui montrent que pour les nitrates au cours de l'année 2006, 99,5 % des débits mis en distribution sont conformes en valeur moyenne et que pour plus de 99 % des débits d'eau non conformes, la concentration moyenne observée est comprise entre 50 et 75 milligrammes par litre ;

Considérant les données disponibles dans la base SISE-Eaux qui montrent que pour les nitrites sur la période allant de janvier 2003 à décembre 2006, le 50<sup>ème</sup> percentile des résultats des analyses non conformes est de 0,62 milligramme par litre et le 95<sup>ème</sup> percentile est de 1,85 milligrammes par litre ;

### **Concernant la méthémoglobinémie du nourrisson**

Considérant les incertitudes scientifiques sur le seul rôle des nitrates dans la survenue de la méthémoglobinémie du nourrisson et notamment, du rôle possible du facteur microbiologique et des mécanismes d'inflammation du tractus gastro-intestinal ;

### **Concernant les évaluations du CIRC**

Considérant que le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) estime :

- qu'il n'existe pas de preuves suffisantes chez l'homme concernant la cancérogénicité des nitrates dans l'eau de boisson ;
- qu'il existe des preuves limitées suite à des expérimentations animales concernant la cancérogénicité des nitrites *per se* ;
- que les nitrates et les nitrites sont probablement cancérogènes pour l'homme lors d'une ingestion dans des conditions qui entraînent une nitrosation endogène ;

### **Concernant les évaluations du JECFA**

Considérant la dose journalière admissible de 3,7 mg/kg p.c./j pour les nitrates établie par le FAO/WHO<sup>1</sup> Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) en 2003 chez le rat en exposition chronique<sup>2</sup> ;

Considérant que pour l'étude sus-citée (Lehman, 1958), la durée d'exposition et les effets cibles observés sont différents de ceux conduisant à la méthémoglobinémie et que les données publiées apparaissent critiquables sur le plan méthodologique pour établir une dose journalière admissible ;

Considérant que l'utilisation du rat comme modèle toxicologique n'est pas pertinente pour l'évaluation du risque chez l'homme notamment en raison de l'absence de recirculation entéro-salivaire des nitrates chez le rat ;

Considérant la dose journalière admissible pour les nitrites de 0,07 mg/kg p.c./j établie chez le rat par le FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) en 2003 ;

---

<sup>1</sup> Food and Agriculture Organization / World Health Organization

<sup>2</sup> La DJA du JECFA (2003) a été retenue par l'AESA (Agence Européenne de Sécurité des Aliments) dans son rapport de 2008

### **Concernant les données d'exposition**

Considérant les niveaux estimés d'apports via l'alimentation (aliments solides et eau de boisson) pour les nitrites ;

Considérant les incertitudes scientifiques actuelles relatives à la quantification de la formation endogène des composés N-nitrosés à partir d'un apport exogène en nitrates et nitrites ;

Considérant que la seule enquête TNS-Sofres de 2005 sur la consommation de l'eau du robinet concernant 64 individus indique que jusqu'à trois mois, aucun nourrisson ne consommerait d'eau du réseau de distribution publique ;

### **Conclusions et recommandations**

L'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments rappelle :

- qu'il convient d'assurer au maximum la préservation de la qualité des ressources en eau brute utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine ;
- qu'il convient de mettre en œuvre les moyens permettant de ramener la concentration en nitrates et en nitrites dans les eaux destinées à la consommation humaine, au moins au niveau de la limite de qualité dans les meilleurs délais possibles ;

L'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments estime que :

- les données disponibles actuellement sont suffisantes pour admettre que le risque de méthémoglobinémie chez le nourrisson peut être considéré comme négligeable pour une eau dont la concentration en nitrates respecte la limite de qualité de 50 mg/L ;
- les éléments fragmentaires d'évaluation du risque de méthémoglobinémie chez le nourrisson et l'absence de dose journalière admissible suffisamment robuste ne permettent pas de proposer une valeur de dérogation en cas de dépassement de la limite de qualité des nitrates et qu'il serait en conséquence souhaitable de disposer d'études toxicologiques dans des modèles animaux pertinents ;
- les apports journaliers en nitrites par l'alimentation, déterminés selon des estimations conservatrices, sont supérieurs à la dose journalière admissible proposée par le JECFA en 2003 de 0,07 mg/kg p.c./j pour les enfants d'une part et les adultes forts consommateurs d'autre part ; la consommation d'une eau présentant une concentration en nitrites supérieure à la limite de qualité de 0,5 mg/L est en conséquence déconseillée ;
- les connaissances actuelles ne permettent pas de quantifier la formation endogène de composés N-nitrosés à partir d'un apport de nitrates et nitrites et en conséquence d'évaluer le risque cancérigène lié à un tel apport.

La Directrice générale de l'Agence française  
de sécurité sanitaire des aliments

**Pascale BRIAND**

**Mots-clés** : nitrates, nitrites, composés N-nitrosés, dépassement des limites de qualité, eaux d'alimentation.

## Fiche 19 : Evaluation des risques sanitaires liés au dépassement des limites de qualité des nitrates et des nitrites dans les eaux destinées à la consommation humaine

Limite de qualité nitrates : 50 mg/L<sup>3</sup>

Limite de qualité nitrites : 0,5 mg/L

### Sommaire

1 – Origines et sources de contamination .....	2
1.1 les nitrates.....	2
1.2 les nitrites.....	2
2 – Traitements réduisant la teneur en nitrates dans les eaux .....	2
3 – Méthodes d'analyse.....	3
4 – Evaluation de l'exposition.....	4
4.1 Nitrates.....	4
4.1.1 Exposition aux nitrates via les aliments .....	4
4.1.2 Apport par l'eau de boisson .....	7
4.1.2.1 Qualité des eaux du réseau de distribution public.....	7
4.1.2.2 Ingestion d'eau en dehors des repas.....	7
4.1.2.3 Ingestion d'eau par les nourrissons (enfants de moins de 12 mois).....	7
4.1.3 Part des sources d'exposition .....	8
4.2 Nitrites.....	9
4.2.1 Exposition aux nitrites via les aliments .....	9
4.2.2 Exposition aux nitrites via l'eau : bilan des données extraites de la base SISE-Eaux .....	11
4.2.3 Part des sources d'exposition .....	11
5 – Effets sur la santé.....	12
5.1 – Métabolisme des nitrates et nitrites .....	12
5.2 – Méthémoglobinémie .....	12
5.3 – Troubles de la reproduction, anomalies du développement et autres effets.....	14
5.4 – Mutagénicité, génotoxicité, et cancérogénicité.....	15
5.4.1 Mutagénicité et génotoxicité des ions nitrates et nitrites.....	15
5.4.2 Les composés N-Nitrosés .....	15
5.4.3 Études épidémiologiques .....	19
5.4.4 Classement des nitrates et nitrites par le CIRC .....	20
6 - Valeurs de référence.....	21
6.1 - Valeurs toxicologiques de référence .....	21
6.1.1 - Nitrates.....	21
6.1.2 - Nitrites .....	23
6.1.3 Composés N-Nitrosés .....	25
6.2 Valeurs de référence dans l'eau de boisson.....	25
7 - Bilan.....	26
Sources bibliographiques .....	29
Annexe 1 – Fiche 19 : Présentation de la méthodologie pour l'estimation des apports alimentaires en nitrites et nitrates .....	36
Annexe 2 – Fiche 19 : Métabolisme des nitrates (extracellulaire).....	38
Annexe 3 – Fiche 19 : Composés et mélanges naturels inhibiteurs de la N-nitrosation.....	40
Annexe 4 – Fiche 19 : Etudes épidémiologiques de la relation du risque de cancer avec l'exposition aux nitrates dans l'eau potable.....	41
Annexe 5 – Fiche 19 : VTR chroniques proposées pour la NDMA.....	54

<sup>3</sup> Les concentrations de nitrates et de nitrites dans l'eau sont souvent exprimées dans la littérature en «azote de nitrate» et «azote de nitrite». Les équivalents sont les suivants : 1 mg/L (exprimé en N) = 4,43 mg/L (exprimé en NO<sub>3</sub>), et 1 mg/L (exprimé en N) = 3,29 mg/L (exprimé en NO<sub>2</sub>).

Le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) et le nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) sont des ions naturels omniprésents dans l'environnement qui sont des produits de l'oxydation de l'azote par les microorganismes dans les plantes, le sol ou l'eau. Le nitrate est la forme oxydée la plus stable de l'azote qui peut cependant être réduit en nitrite par action microbienne. La présente fiche traite donc conjointement de ces deux ions.

Dans les organismes vivants, les nitrates et les nitrites peuvent conduire à des composés N-nitrosés d'importance toxicologique majeure. C'est pourquoi dans cette fiche, les dangers associés à ces composés N-nitrosés sont intégrés et les données toxicologiques et métaboliques sont détaillées en annexe.

L'AESA (Agence Européenne de la Sécurité des Aliments) a remis un avis<sup>4</sup> à la Commission Européenne en avril 2008 concernant les risques et les bénéfices des nitrates dans les légumes en tenant compte des variations des expositions observées en Europe.

L'approche de l'Afssa repose sur la prise en compte des apports par l'eau et par l'alimentation (y compris les légumes) et permet donc d'évaluer précisément l'exposition aux nitrates et aux nitrites de la population française.

## 1 – Origines et sources de contamination

### 1.1 les nitrates

Les nitrates des **sols** proviennent de la fixation de l'azote atmosphérique par certaines espèces végétales (légumineuses), et sont donc toujours présents, même en l'absence de fertilisation azotée, mais celle-ci en constitue la source majeure.

Les nitrates des **eaux souterraines** proviennent du lessivage par l'eau de pluie des nitrates produits naturellement dans le sol superficiel, ou apportés sous forme d'engrais. La concentration naturelle en nitrates dans les eaux souterraines est inférieure à 10 mg/L.

Les nitrates des **eaux superficielles** ont deux origines principales : l'apport par les nappes souterraines, en rapport avec les activités agricoles et les rejets d'eaux usées urbaines, qui contiennent aussi de l'ammonium. Certaines activités industrielles (par exemple dans l'agro-alimentaire) peuvent rejeter des eaux usées chargées en nitrates.

Le lessivage par la pluie des sols agricoles, particulièrement en hiver ou à la suite d'orages importants peu de temps après l'épandage d'engrais, peut également constituer une source significative de nitrates pour les eaux superficielles. Dans de nombreux cours d'eau français, une forte saisonnalité des teneurs en nitrates est observée avec des concentrations élevées en hiver et basses en été.

### 1.2 les nitrites

L'ion nitrite peut être présent à l'état de trace dans les eaux souterraines ou se former dans les canalisations où la corrosion est importante, mais il est très rapidement oxydé en ion nitrate par le chlore libre, de sorte qu'il n'est qu'exceptionnellement retrouvé dans les eaux de distribution.

## 2 – Traitements réduisant la teneur en nitrates dans les eaux

Conformément aux dispositions de l'article R.1321-50 du code de la santé publique, les produits et procédés de traitement mis sur le marché et destinés au traitement de l'eau destinée à la consommation humaine doivent, dans les conditions normales ou prévisibles de leur emploi, être conformes à des dispositions spécifiques définies par arrêté du ministre chargé de la santé visant à ce que (i) ils ne soient pas susceptibles, intrinsèquement ou par l'intermédiaire de leurs résidus, de présenter directement ou indirectement un danger pour la santé humaine ou d'entraîner une altération de la composition de l'eau définie par référence à des valeurs fixées par cet arrêté ; (ii) ils soient suffisamment efficaces.

A ce jour et dans l'attente de la publication d'un arrêté relatif aux produits et procédés de traitement de l'eau, les dispositions spécifiques à respecter sont celles définies dans :

<sup>4</sup> Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on the request from the European Commission to perform a scientific risk assessment on nitrate in vegetables, The EFSA Journal (2008), Journal number, 689, 1-79

- la circulaire du 28 mars 2000<sup>5</sup>,
- la circulaire du 16 mars 1995, en cas d'emploi de procédés mettant en œuvre des modules de filtration membranaires.

Les traitements suivants permettent une diminution des teneurs en nitrates dans l'eau mais il convient de s'assurer qu'ils sont autorisés, au cas par cas.

**Traitements biologiques** : nitrification-dénitrification

En présence de substances oxydables par voie biologique, certaines bactéries peuvent, si la teneur en oxygène dans l'eau est trop faible, utiliser l'oxygène des nitrates qui sont réduits d'abord en nitrites, puis en azote gazeux. Ceci explique pourquoi l'eau ne doit pas être mise en distribution au démarrage du système, tant que des nitrites sont produits.

- Les procédés sont hétérotrophes quand la substance oxydable est une molécule organique facilement biodégradable : l'acide acétique et l'éthanol sont autorisés en France.
- Les procédés autotrophes utilisent des substances minérales oxydables : le soufre et les sulfures sont autorisés en France.

Ces bactéries étant très sensibles aux faibles températures, seule la dénitrification des eaux souterraines est autorisée pour la production d'eau destinée à la consommation humaine.

**Traitements physico-chimiques** : échange d'ions ou électrodialyse

- Des résines échangeuses d'anions permettent de remplacer l'ion nitrate par l'ion chlorure. Ces résines retiennent fortement l'ion sulfate et, au démarrage, une partie des hydrogénocarbonates ce qui induit une variation de pH. Dans ces conditions, l'équilibre calco-carbonique de l'eau doit faire l'objet d'une attention particulière. De plus, si le système est arrêté plus de 12 heures, ces résines peuvent relarguer des amines qui réagissent en cas de stagnation de l'eau avec des nitrites néoformés à partir des nitrates présents dans l'eau ou échangés sur la résine. Une régénération avant la remise en service est donc indispensable. C'est la raison pour laquelle l'usage domestique de ces résines n'est pas recommandée. Enfin, une très grande attention doit être portée au rejet des éluats de ces résines qui sont très concentrés en nitrates.
- Les traitements d'électrodialyse utilisent une membrane permselective des nitrates.

**Traitements membranaires** : nanofiltration ou osmose inverse

- Certaines membranes de nanofiltration avec un point de coupure inférieur à 100 Daltons permettent de retenir les nitrates avec un rendement qui n'excède pas 50 %.
- L'osmose inverse permet la déminéralisation de l'eau et, de ce fait, de retirer les nitrates.

### 3 – Méthodes d'analyse

L'arrêté du 17 septembre 2003<sup>6</sup> relatif aux méthodes d'analyse des échantillons d'eau et à leurs caractéristiques de performance précise que :

- pour les nitrates, la justesse, la fidélité et la limite de quantification ne doivent pas dépasser 10% de la valeur paramétrique (5 mg/L) et que la limite de détection doit être inférieure à 4 mg/L,
- pour les nitrites, la justesse, la fidélité et la limite de quantification ne doivent pas dépasser 10% de la valeur paramétrique (0,05 mg/L) et que la limite de détection doit être inférieure à 0,05 mg/L.

<sup>5</sup> Circulaire DGS/VS 4 n° 2000-166 du 28 mars relative aux produits de procédés de traitement des eaux destinées à la consommation humaine, NOR : MESP0030113C

<sup>6</sup> Arrêté du 17 septembre 2003 relatif aux méthodes d'analyse des échantillons d'eau et à leurs caractéristiques de performance, NOR : SANP0323688A, JORF du 7 novembre 2003, p. 19027 à 19033

Les méthodes normalisées indiquées ci-après permettent la quantification des nitrates et les nitrites dans l'eau :

- NF EN ISO 10304-1 (Juin 1995) : dosage des ions fluorure, chlorure, nitrite, orthophosphate, bromure, nitrate et sulfate dissous, par chromatographie des ions en phase liquide - Partie 1 : méthode applicable pour les eaux faiblement contaminées
- NF EN ISO 13395 (Octobre 1996) : Détermination de l'azote nitreux et de l'azote nitrique et de la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique.
- NF EN 26777 (Mai 1993) Qualité de l'eau - Dosage des nitrites - Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire.

### ***Incertitude analytique***

L'incertitude de la mesure peut être estimée à partir d'essais inter-laboratoires en déterminant le coefficient de variation de la reproductibilité (CVR%).

- Pour les nitrates, la concentration maximale testée lors d'essais inter-laboratoires est de 25 mg/L ; à cette concentration la valeur du CVR% est de 4,1 %. L'intervalle de confiance à 95% est de  $\pm 1$  mg/L. La valeur supérieure des analyses est donc de l'ordre de 26 mg/L (AGLAE, 2003).
- Pour les nitrites, au niveau de la limite de qualité (0,5 mg/L), l'intervalle de confiance à 95 % est de  $\pm 0,029$  mg/L, dans le cas des essais inter-laboratoires d'AGLAE (2003).

Tableau 3.1 : Evolution de l'incertitude pour différentes concentrations en nitrites dans l'eau à partir du CVR% estimé par AGLAE, à partir d'essais inter-laboratoires, toutes méthodes analytiques confondues – Source : AGLAE, 2003

Niveau de concentration dans l'eau (mg/L)	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7
CVR %	9,5	7,4	6,4	5,8	5,4	5,1
Estimation de l'incertitude* (mg/L)	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$	$\pm 0,04$

\*Intervalle de confiance à 95 % pour une mesure réalisée par un laboratoire sous contrôle qualité pris au hasard

## **4 – Evaluation de l'exposition**

### **4.1 Nitrates**

La pollution de l'air contribue pour une part minime à l'exposition aux nitrates, par rapport à l'alimentation. Les végétaux représentent la source principale lorsque la concentration en nitrates dans l'eau est inférieure ou égale à la limite de qualité.

#### **4.1.1 Exposition aux nitrates via les aliments**

##### **4.1.1.1 Données générales**

D'après l'OMS, l'exposition individuelle moyenne en nitrates est comprise entre 43 et 131 mg NO<sub>3</sub>/jour (étude des repas dupliqués ; OMS, 2007). Les estimations basées sur l'excrétion urinaire de nitrates excrétés sont comprises entre 39 et 268 mg/jour (OMS, 2007).

Les apports par les additifs alimentaires sont minoritaires.

Les apports en nitrates sont hautement variables d'un pays à l'autre, et selon les groupes de sujets (végétariens/non végétariens par exemple – Schuddeboom, 1993 ; JECFA, 2003) et sont compris entre 43 et 154 mg NO<sub>3</sub>/jour en Europe – hors apports par l'eau (Schuddeboom, 1993 ; JECFA, 2003), soit 0,72 à 2,57 mg/kg p.c./j pour un individu de 60 kg.

Au niveau européen, l'AESA a défini cinq scénarii d'exposition afin de couvrir les variations observées sur les niveaux de consommation et de contamination en nitrates dans les légumes. Le scénario de base montre que les apports en nitrates par les légumes sont estimés à 157 mg/personne/j en retenant une concentration médiane en nitrates dans les légumes de 392 mg/kg et une consommation journalière individuelle de 400 g/personne/jour de légumes uniquement (scénario basé sur les recommandations de l'OMS concernant la consommation des fruits et légumes). Bien que très

variable, l'exposition journalière aux nitrates par d'autres sources que les légumes est estimée à 44 mg/personne/jour dont 20 mg/personne/jour attribuable à l'eau (AESAs, 2008).

#### 4.1.1.2 Données françaises

##### Etude des repas dupliqués - 1991

En 1991, le Ministère chargé de la Santé a réalisé une étude – la diagonale des nitrates - visant à déterminer les quantités de nitrates réellement ingérées par la population française en retenant la méthode par dosage direct dans les rations alimentaires<sup>7</sup>. (Ministère chargé de la Santé, 1991). Les résultats sont rapportés dans le tableau 4.1.1.2-1 :

Tableau 4.1.1.2-1 : Estimation des apports alimentaires en nitrates de la population française - 1991

Source : Ministère chargé de la Santé 1991

	Scolaire	Entreprise	Hôpital	Maison retraite	Moyenne adulte	Moyenne générale
Moy. Alim. mg/repas	27.7	57.7	78	42.4	59.4	51.45
Total (aliments + eau) mg/repas	42.4	74	93	54.8	73.9	66.05

En supposant que l'apport journalier correspond à l'équivalent de deux repas pris en restauration collective, la quantité moyenne ingérée est de l'ordre de 103 mg/jour, soit 1,72 mg/kg p.c./j (hors apports par l'eau), ce qui est compris dans l'intervalle [43 mg NO<sub>3</sub>/jour, 154 mg NO<sub>3</sub>/jour] défini précédemment au niveau européen. Cette quantité représente 78 % des apports totaux.

Les principaux aliments contributeurs sont les légumes « concentrateurs » : radis, betteraves, épinards, laitues, bettes, mâches, céleris et navets (48 % des apports). Les aliments « non concentrateurs », mais fortement consommés sont également des aliments vecteurs importants (34 %) : pommes de terre, carottes, choux, courgettes, haricots verts et poireaux.

##### Tâche SCOOP – 1997 (EC, 1997)

L'exposition de la population française aux nitrates via les végétaux a aussi été estimée au travers de la tâche SCOOP en 1997 (Tableau 4.1.1.2-2). Les données utilisées sont les suivantes :

- les données de consommation issues des données d'achat du panel SECODIP (1991) qui fournissent des informations pour la population générale et pour les consommateurs en incluant les percentiles extrêmes (95<sup>ème</sup> percentile) ;
- les données de contamination issues des plans de surveillance et de contrôle de la DGCCRF.

Tableau 4.1.1.2-2 : Estimation des apports alimentaires en nitrates de la population française - 1997

Source : European Commission, 1997

Apports journaliers en nitrates (mg/kg p.c./j)	Population générale	Seuls consommateurs
Moyenne	0,6	0,97
95 <sup>ème</sup> percentile	2,8	3,3

Il est à noter que ces valeurs d'exposition ne prennent pas en compte la formation endogène de nitrates et nitrites, ni la réduction endogène des nitrates ingérés en nitrites (environ 5 % dans la salive, selon Schuddeboom, 1994).

##### Estimation du niveau d'exposition aux nitrates – Afssa, 2007

L'étude conduite par l'Afssa (Afssa – Paser, 2007a) combine les données individuelles de consommation alimentaire de l'enquête INCA1 avec les données de concentration issues des plans

<sup>7</sup> Pour s'affranchir des modalités de conservation et de cuisson des aliments, facteurs importants de fluctuation pour le paramètre nitrates, il a été décidé de pratiquer des analyses directement dans l'assiette du consommateur, en restauration collective (le ¼ des français ayant recours à ce type d'alimentation le midi, chiffre en augmentation de 1% par an en 1990). L'étude a été menée sur :

- 12 départements représentatifs de la diversité des situations en France
- 4 grands types de restauration collective (écoles maternelles et primaires, maisons de retraite, hôpitaux, restauration d'entreprise)
- 42 restaurants et 400 repas analysés



de surveillance et de contrôle de la DGCCRF au cours des années 2000 à 2006, soit 13657 données concernant 138 aliments.

Afin de prendre en compte les données inférieures à la limite de détection ou à la limite de quantification, les apports journaliers ont fait l'objet d'une estimation haute et d'une estimation basse, la méthode de calcul est indiquée en annexe 1. Les résultats sont consignés dans le tableau 4.1.1.2-3.

Tableau 4.1.1.2-3 : Estimation des apports alimentaires (hors eau) en nitrates dans la population française - 2007 source : Afssa, 2007

Apports journaliers en nitrates (mg/kg p.c./j)	Adultes > 15 ans		Enfants entre 3 et 14 ans	
	Estimation basse	Estimation haute	Estimation basse	Estimation haute
Moyenne	1,3	1,3	1,7	1,8
95 <sup>ème</sup> percentile	2,7	2,75	3,8	3,9

Limites de l'estimation de l'exposition aux nitrates : les données issues des plans de surveillance de la DGCCRF ne concernent que les aliments connus comme étant des contributeurs aux apports alimentaires. De plus des difficultés ont été rencontrées pour la codification de certaines denrées alimentaires analysées. Enfin, le nombre d'analyses par denrée alimentaire est très hétérogène.

Dans cette enquête, les données nationales montrent que les principaux aliments contributeurs à l'exposition de la population sont les légumes « concentrateurs » (60 % des apports) : salades (41 %), radis, petits pois, haricots verts et céleris branches. Les pommes de terre « non concentrateurs » mais fortement consommées sont également des aliments vecteurs importants, elles représentent 13 % des apports.

#### 4.1.1.3 Bilan : exposition aux nitrates via les aliments

Le tableau 4.1.1.3 récapitule les études disponibles permettant d'évaluer les apports alimentaires en nitrates.

Tableau 4.1.1.3 : récapitulatif de l'exposition aux nitrates via l'alimentation

Pays	Date	Apport moyen mg/ kg p.c./j	Apport pour les forts consommateurs mg/ kg p.c./j	Commentaires
Europe		0,72 à 2,57		Apports hors eau Extrêmement variable d'un pays à l'autre
Europe	2008	3,0	8,0	Apports via les légumes + 24 mg/personne/jour pour les autres apports hors eau Extrêmement variable d'un pays à l'autre Des scénarii spécifiques sont proposés pour prendre en compte la variabilité des paramètres d'exposition
France – Repas dupliqué	1991	1,72 (population générale)		Apports hors eau de boisson
France – tâche SCOOP Contamination X Consommation	1997	0,6 (population générale)	2,8 (population générale) (95 <sup>ème</sup> percentile)	Apports via les légumes
France – Afssa Contamination X Consommation	2007	1,3 (adultes) 1,8 (enfants)	2,75 (adultes) 3,9 (enfants) (95 <sup>ème</sup> percentile)	Apports hors eau de boisson et eau chauffée (thé, café, soupe)

Les résultats des études conduites en 1991 et en 2007 sont similaires, bien que les méthodes pour estimer les apports en nitrates soient différentes. La méthode consistant à combiner les données de consommation alimentaire avec les données de contamination des denrées à l'échelon français permet d'estimer les apports de la population française de façon plus représentative. La méthode des repas dupliqués permet la prise en compte de la dégradation ou de la migration des nitrates lors de la cuisson. Concernant l'effet de la cuisson des aliments, l'étude menée par le Royaume-Uni montre une

réduction de 75 % des teneurs en nitrates dans la majorité des légumes (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1998). A noter cependant que les salades consommées généralement crues représentent plus de 40 % des apports en nitrates.

#### 4.1.2 Apport par l'eau de boisson

##### 4.1.2.1 Qualité des eaux du réseau de distribution public

Le programme réglementaire de contrôle sanitaire défini par l'arrêté du 11 janvier 2007 prévoit la réalisation d'analyses de ce paramètre au point de puisage (de 1 fois tous les 5 ans à 12 fois par an) et après traitement (de 1 à plus de 144 fois par an).

D'après les données extraites de la base SISE-Eaux (Ministère chargé de la santé - DDASS) indiquées dans le tableau 4.1.2.1, 46,8% des débits contrôlés ont des teneurs moyennes en nitrates inférieures ou égales à 10 mg/L et 99,5 %, inférieures à 50 mg/L.

Tableau 4.1.2.1 : Distribution des débits contrôlés au cours de l'année 2006 en fonction de la teneur moyenne en nitrates de l'eau.

Concentration en NO <sub>3</sub> (mg/L)	≤ 10	> 10 et ≤ 25	> 25 et ≤ 40	> 40 et ≤ 50	> 50 et ≤ 60	> 60 et ≤ 75	> 75 et ≤ 100	>100	Total
Débits contrôlés (millions de m <sup>3</sup> /j)	7,57	6,07	2,09	0,38	0,06	0,02	0,0008	0,0	16,2
Nb d'unités de production contrôlées	12438	4024	2428	722	270	83	16	1	19982
Nombre de mesures (contrôle sanitaire prévu par l'arrêté préfectoral uniquement, sans analyses de données de recontrôle)	29343	12722	7952	2202	682	210	33	1	53145

Concernant les situations de dépassement de la limite de qualité :

- pour plus de 74,3 % des débits d'eau non conformes, la concentration moyenne observée est comprise entre 50 et 60 mg/L,
- pour plus de 99 % des débits d'eau non-conformes, la concentration moyenne observée est comprise entre 50 et 75 mg/L.

##### 4.1.2.2 Ingestion d'eau en dehors des repas

Les données extraites de l'enquête INCA 1 (tableau 4.1.2.2) renseignant sur les consommations alimentaires de la population générale française, montrent que la consommation d'eau du réseau public chauffée et non chauffée, en France, en dehors des repas, représenterait en moyenne 38 % des apports totaux.

Tableau 4.1.2.2 : consommation d'eau du réseau public (pourcentage de l'apport total). Source : Afssa – Paser, 2007b

Consommation journalière d'eau chauffée et non chauffée (ml/j)	Population générale		Seuls consommateurs	
	Total	En dehors des repas	Total	En dehors des repas
Moyenne	433	166 (38 %)	474	182 (38 %)
95 <sup>ème</sup> percentile	1211	619 (51 %)	1256	637 (51 %)

##### 4.1.2.3 Ingestion d'eau par les nourrissons (enfants de moins de 12 mois)

L'Observatoire des Consommations Alimentaires – Epidémiologie Nutritionnelle (Afssa) a utilisé les données de consommations alimentaires des nourrissons et enfants français en bas âge (âgés de 1 à 36 mois), d'une étude réalisée en 2005 par TNS-SOFRES en collaboration avec l'Université de Bourgogne, pour le Syndicat Français des Aliments de l'Enfance (SFAE).

Cette enquête alimentaire par semainier de 3 jours consécutifs a été conduite sur 447 nourrissons et jeunes enfants<sup>8</sup> de moins de 12 mois. Seuls les nourrissons et jeunes enfants non allaités au sein (ni exclusivement ni partiellement), ne fréquentant pas une crèche collective ou une école pendant les jours d'enquête ont été inclus. La consommation moyenne d'eau sur 3 jours a été estimée. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.1.2.3.

Tableau 4.1.2.3 : Proportions de nourrissons et de jeunes enfants entre 1 et 12 mois ayant consommé de l'eau du robinet sur 3 jours et quantité ingérée en mL/j

Age (mois)	Nombre d'individus	Fréquence de consommation d'eau du robinet		Quantité consommée d'eau du robinet chez les seuls consommateurs en mL/j		
		n	%	Moy ± e-t	Min	Max
1-3	64	0	0,00%	Non est.	Non est.	Non est.
4-6	187	2	1,07%	148,3 ± 157,9	36,7	260,0
7-12	196	14	7,14%	73,4 ± 80,8	10,0	236,7
Global 1-12 mois	447	16	3,58%	82,7 ± 89,3	10,0	260,0

Dans la seule enquête disponible (TNS - Sofres, 2005), l'eau de distribution publique ne semble pas être consommée par les nourrissons de moins de trois mois.

#### 4.1.3 Part des sources d'exposition

L'étude conduite par l'Afssa (2007a), permet d'estimer pour différents scénarios d'exposition via l'eau de boisson, les apports cumulés en nitrates. Seules les estimations hautes sont reportées dans ce tableau<sup>9</sup>.

Tableau 4.1.3 : Estimations hautes des apports en nitrates en tenant compte de différents scénarios d'apport par l'eau. La part apportée par l'eau est indiquée entre parenthèses. Source : Afssa – Paser, 2007a

Apports journaliers en nitrates (mg/kg p.c./j)	Adultes > 15 ans			
	C° NO <sub>3</sub> = 20 mg/L	C° NO <sub>3</sub> = 50 mg/L	C° NO <sub>3</sub> = 60 mg/L	C° NO <sub>3</sub> = 70 mg/L
Moyenne	1,5 (11 %)	2 (34 %)	2,15 (38 %)	2,3 (42 %)
95ème percentile	3	3,7	3,9	4,1
97,5ème percentile	3,3	4,1	4,3	4,6
Apports journaliers en nitrates (mg/kg p.c./j)	Enfants de 3 à 14 ans			
	C° NO <sub>3</sub> = 20 mg/L	C° NO <sub>3</sub> = 50 mg/L	C° NO <sub>3</sub> = 60 mg/L	C° NO <sub>3</sub> = 70 mg/L
Moyenne	2 (10%)	2,8 (34 %)	2,95 (39 %)	3,1 (42 %)
95ème percentile	4,3	5,5	5,8	6,1
97,5ème percentile	4,9	6,1	6,5	6,9

Lorsque la concentration dans l'eau de boisson est proche de 20 mg/L, les apports par l'eau représenteraient environ 10 % des apports de la population adulte française. Lorsque la concentration dans l'eau est de 50 mg/L (limite de qualité), la part de l'eau représente alors 34 % de l'exposition aux nitrates.

<sup>8</sup> Ces nourrissons et enfants sont sélectionnés par la méthode des quotas de la TNS-SOFRES qui vise à ce que la cohorte étudiée soit, en principe, représentative de la population française

<sup>9</sup> On remarque que si la valeur toxicologique du JECFA de 3,7 mg/kg p.c./j est retenue, les apports journaliers en nitrates dépassent cette DJA pour une partie de la population. Cette valeur toxicologique de référence ainsi que les études sur lesquelles elle repose sont exposées au paragraphe 6.1.1

## 4.2 Nitrites

Aucune donnée concernant les concentrations en nitrites dans l'air n'a été répertoriée. Ce mode d'exposition est considéré comme négligeable.

### 4.2.1 Exposition aux nitrites via les aliments

Les apports moyens en nitrites par personne sont compris :

- d'après l'OMS, entre 1,2 et 3 mg/j (repas dupliqués) (OMS, 2007),
- d'après le JECFA, entre 0,21 et 0,63 mg/j (JECFA, 2002),
- d'après l'US National Research Council, entre 0,3 et 2,6 mg/j (NAS, 1981 in OMS, 2007).

Les nitrites peuvent avoir différentes origines : ils sont présents naturellement dans les produits alimentaires ou peuvent être ajoutés comme additifs alimentaires sous forme de nitrite de sodium ou de potassium<sup>10</sup>.

#### 4.2.1.1 Apports hors additifs

L'apport en nitrites par l'alimentation (sans les additifs) serait en moyenne de 1,7 mg/j (0,028 mg/kg p.c./j) pour un individu de 60 kg. Cette estimation se fonde sur les données moyennes de contamination fournies par le MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food - UK) au cours des années 1997, 1998 et 2001 et des données de consommation à l'échelon européen. Les principaux contributeurs sont les céréales (35 %) et l'eau (20 %), en considérant l'ingestion de 2 litres par jour à une concentration de 0,3 mg/L.

L'AESA met en évidence la faible contribution de l'exposition aux nitrites via les légumes au regard de l'exposition liée à la biotransformation des nitrates en nitrites (AESA, 2008).

#### 4.2.1.2 Estimation de l'apport par les additifs alimentaires

Une étude réalisée par l'Afssa en 2005 combine les données de consommation fournies par l'Observatoire des consommations alimentaires (OCA) et celles des compositions et des recettes d'aliments industriels recueillies par la DGCCRF auprès des fabricants.

Cette étude ne prend pas en compte les nitrites présents naturellement dans les aliments. Ces informations plus récentes confortent les résultats obtenus dans l'étude plus ancienne (Hoellinger *et al.*, 1999).

Une estimation de l'apport réel en additifs alimentaires a été calculée à partir des données de consommation individuelle de l'enquête INCA. Cet apport a été évalué selon deux hypothèses de calcul. Une première hypothèse prend en compte comme concentration la valeur moyenne en mg/kg estimée à partir des données fournies par la DGCCRF en incluant les valeurs nulles relevées dans les recettes des produits sélectionnés. Ce scénario suppose que les consommateurs ingèrent aléatoirement des produits alimentaires pouvant contenir ou non des additifs. Selon cette hypothèse, l'apport moyen en nitrites par les additifs alimentaires serait de 0,034 mg/kg p.c./j pour les adultes de plus de 15 ans et de 0,058 mg/kg p.c./j pour les enfants de 3 à 14 ans.

#### 4.2.1.3 Apports totaux en nitrites

Différentes études à l'échelon européen ont cherché à estimer les apports totaux en nitrites par l'alimentation :

- **Une étude de l'alimentation totale (ou Total diet studies : TDS) a été réalisée par la Royaume-Uni** en 1997, les résultats sont consignés dans le tableau 4.2.1.3-1 :

<sup>10</sup> L'AESA a rendu un avis du 26 novembre 2003 relatif aux effets des nitrates et des nitrites sur la sécurité microbiologique des produits à base de viande (Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products, *The EFSA Journal* (2003) 14, 1-34)

Tableau 4.2.1.3-1 : Estimation des apports en nitrites au Royaume-Uni (1997)

	Adultes Aliments hors eau	Adultes Aliments et eau	Population générale Estimation basse
Moyenne mg/kg p.c./j	0,022	0,023	0,012 borne inférieure
97,5 <sup>ème</sup> percentile mg/kg p.c./j	0,037	0,038	0,021 borne supérieure

- Aux **Pays-Bas, une étude des repas dupliqués** a été réalisée en 1994. Cette étude a permis d'estimer les apports en nitrites par l'eau et les aliments pour 123 adultes de 18 à 74 ans. Les données ont été collectées au cours d'une année afin de prendre en compte les variations saisonnières. La valeur médiane des apports est inférieure à 0,003 mg/kg p.c./j et la valeur maximale est de 0,23 mg/kg p.c./j.
- **Estimation du niveau d'exposition aux nitrites – Afssa, 2007**  
L'étude conduite par l'Afssa (Afssa – Paser, 2007a) combine les données de consommation alimentaire individuelles de l'enquête INCA1 avec les données de concentration issues des plans de surveillance et de contrôle de la DGCCRF au cours des années 2000 à 2006, soit 13657 données concernant 109 aliments.  
Afin de prendre en compte les données inférieures à la limite de détection ou à la limite de quantification, les apports journaliers ont fait l'objet d'une estimation haute et d'une estimation basse, la méthode de calcul de ces estimations d'apport est indiquée en annexe 1. Les résultats sont consignés dans le tableau 4.2.1.3-2.

Tableau 4.2.1.3-2 : Estimation des apports en nitrites par l'alimentation en France (hors eau)  
source : Afssa, 2007

Apports journaliers en nitrites (mg/kg p.c./j)	Adultes > 15 ans		Enfants entre 3 et 14 ans	
	Estimation basse	Estimation haute	Estimation basse	Estimation haute
Moyenne	0,020	0,044	0,035	0,080
95 <sup>ème</sup> percentile	0,038	0,076	0,071	0,145

Limites de l'estimation de l'exposition aux nitrites : les données issues des plans de surveillance de la DGCCRF ne concernent que les aliments connus comme étant des contributeurs aux apports alimentaires. De plus des difficultés ont été rencontrées pour l'identification de certaines denrées alimentaires analysées et le nombre d'analyses par denrée alimentaire est très hétérogène. Les incertitudes relatives aux niveaux d'exposition via les « autres produits de salaisons ou en conserve » restent difficiles à apprécier et devraient être précisées, en raison du manque de précision de la nomenclature et aux manques de données de consommation individuelles sur ces produits transformés.

Les principaux aliments contributeurs à l'exposition de la population sont les "autres produits de salaison ou en conserves" (34% de l'estimation haute des apports) et les charcuteries (11% des apports). La contribution des légumes et des pommes de terre peut représenter jusqu'à 24 % des estimations hautes des apports.

#### 4.2.1.4 Bilan : exposition aux nitrites via les aliments

Le tableau 4.2.1.4 récapitule les études disponibles permettant d'évaluer les apports alimentaires en nitrites.

Tableau 4.2.1.4 : Récapitulatif de l'exposition aux nitrites via les aliments

Pays	Date	Apport moyen mg/ kg p.c./j	Apport pour les forts consommateurs mg/ kg p.c./j	Commentaires
		0,02 à 0,05		OMS, 1985
		< 0,001 à 0,145		JECFA, 1995
		0,005 à 0,043		NAS 1991
Europe		0,0035 à 0,0063	0,07	Apport totaux – TDS ou repas dupliqués
UK	1997	0,012	0,021	Population générale
		0,022	0,037	Adultes hors eau de boisson
Europe	1997/1998/2001	0,028		Apports aliments hors additifs Données contamination UK
France	2007	0,020 à 0,043 (adultes) 0,035 à 0,078 (enfants)	0,038 à 0,075 (adultes) 0,071 à 0,143 (enfants) (95 <sup>ème</sup> percentile)	Aliments (apports hors eau de boisson) Consommation x contamination
Europe	2008	0,003 à 0,013		Apports par les légumes uniquement AESA, 2008

#### 4.2.2 Exposition aux nitrites via l'eau : bilan des données extraites de la base SISE-Eaux

Le programme réglementaire de contrôle sanitaire défini par l'arrêté du 11 janvier 2007 prévoit la réalisation d'analyses de ce paramètre au point de puisage (de 1 fois tous les 5 ans à 12 fois par an) et après traitement (de 1 à plus de 144 fois par an).

Une étude des données disponibles à partir de la base SISE-EAUX (Ministère de la santé – SISE-Eaux) pour la période de janvier 2003 à décembre 2006 montre que :

- des analyses<sup>11</sup> sont disponibles pour plus de 99,9% des UDI (soit 26840 UDI),
- dans certaines UDI, des nitrites peuvent être détectés dans l'eau distribuée. En l'absence de chlore, la détection des nitrites est ponctuelle et localisée. Les concentrations en chlore dans le réseau rendent exceptionnelle la présence de nitrites dans l'eau.
- au moins un résultat non-conforme a été observé sur 0,4 % de ces unités de distribution d'eau desservant au maximum 548 000 personnes,
- Le 50<sup>ème</sup> percentile des résultats des 112 analyses non conformes est à 0,62 mg/L (le 95<sup>ème</sup> percentile est à 1,85 mg/L).

#### 4.2.3 Part des sources d'exposition

L'étude conduite par l'Afssa (Afssa – Paser, 2007a), permet d'estimer pour différents scénarios d'exposition via l'eau de boisson, les apports cumulés en nitrites. Seules les estimations hautes (cf. 4.1.1, présentation de l'étude Afssa, 2007) sont présentées dans le tableau 4.2.3.

Tableau 4.2.3 : Estimations hautes des apports en nitrites en tenant compte de différents scénarios d'apport par l'eau. La part apportée par l'eau est indiquée entre parenthèses. Source : Afssa – Paser, 2007a

Apports journaliers en nitrites (mg/kg p.c./j)	Adultes > 15 ans		
	C° NO <sub>2</sub> = 0 mg/L	C° NO <sub>2</sub> = 0,5 mg/L	C° NO <sub>2</sub> = 1,68 mg/L
Moyenne	0,043	0,050 (14%)	0,066 (35 %)
95 <sup>ème</sup> percentile	0,075	0,081	0,106
97,5 <sup>ème</sup> percentile	0,083	0,090	0,116
Apports journaliers en nitrites (mg/kg p.c./j)	Enfants de 3 à 14 ans		
	C° NO <sub>2</sub>	C° NO <sub>2</sub> = 0,5 mg/L	C° NO <sub>2</sub> = 1,68 mg/L
Moyenne	0,078	0,088 (10 %)	0,110 (29 %)
95 <sup>ème</sup> percentile	0,143	0,158	0,201
97,5 <sup>ème</sup> percentile	0,169	0,183	0,223

<sup>11</sup> Analyses réalisées sur des prélèvements effectués soit en production, soit en distribution.

Lorsque la concentration dans l'eau est de 0,5 mg/L (limite de qualité), la part de l'eau représente alors 10 à 14 % de l'exposition aux nitrites.

## 5 – Effets sur la santé

### 5.1 – Métabolisme des nitrates et nitrites<sup>12</sup>

L'absorption par voie orale des nitrates et des nitrites est rapide (en moins d'une heure) au niveau de l'intestin grêle proximal (Walker, 1996). A la différence des rongeurs, aucune absorption des nitrates n'est détectée au niveau de l'estomac chez l'homme. La biodisponibilité des nitrates et nitrites est proche de 100 %. Les nitrates diffusent largement dans l'ensemble du compartiment extracellulaire (Jungerstern L. *et al.*, 1996). Le taux plasmatique de nitrates est généralement compris entre 30-60  $\mu\text{mol/L}$  et peut atteindre 200  $\mu\text{mol/L}$  en réponse à une augmentation des apports (Bednar et Kies 1994). Le métabolisme est dépendant de la dose de nitrates ingérée (Cohen et Myant, 1959 ; Spiegelhalder *et al.*, 1976 ; Fritsch *et al.*, 1985).

Une particularité importante du métabolisme des nitrates est l'existence d'un cycle entéro-salivaire, spécifique aux nitrates (Muramatsu *et al.*, 1979). La sécrétion salivaire des nitrates représente 25 % des nitrates ingérés (Spiegelhalder *et al.*, 1976; Tannenbaum *et al.*, 1978). La biotransformation des nitrates salivaires en nitrites par les nitrate-réductases de la microflore buccale représente 5 % de la quantité de nitrates ingérés (Walker, 1996, Pannala *et al.*, 2003). La réduction orale des nitrates en nitrites constituerait la source la plus importante de nitrites pour l'homme (70-80 % de l'exposition aux nitrites). Les nitrates peuvent être également réduits en nitrites par des bactéries entériques et par certaines cellules (érythrocyte) possédant une activité de nitrate-réductase. Les nitrites peuvent être transformés en oxyde nitrique (NO) très labile (demi-vie < 1sec.) qui peut lui-même réagir avec des groupements thiols et des amines pour former des nitrosothiols (RSNOs) comme le résume la revue de Rassaf en 2004. Les nitrites résultant de la réduction des nitrates ingérés sont très rapidement absorbés et oxydés en nitrates dans le sang par une réaction d'oxydation couplée avec l'oxyhémoglobine donnant lieu à la formation de méthémoglobine. Les nitrates et nitrites plasmatiques formés de manière endogène proviennent de l'oxydation de la L-Arginine par la NO synthétase [NOS]. Il existe aussi une synthèse endogène de nitrates liée à la dégradation du NO produit par les cellules endothéliales et estimée à environ 1 mg/kg p.c./jour dans des conditions physiologiques normales et qui est donc équivalente aux apports journaliers moyens en nitrates alimentaires. Les réactions endogènes de nitrosation des amines et amides sont difficilement quantifiables et ne permettent donc pas de discriminer la part alimentaire de celle du métabolisme endogène. En conclusion, le métabolisme endogène des nitrates représente une part importante de la production de nitrates par l'organisme.

L'excrétion des nitrates et des nitrites qui s'effectue principalement par voie urinaire représente 65 % des nitrates ingérés (Pannala AS *et al.*, 2003, Green *et al.*, 1981 Wagner *et al.*, 1983). Il existe une importante réabsorption tubulaire (Suto *et al.*, 1995). L'excrétion urinaire est maximale en 5 h et complète en 18 h, principalement sous forme de nitrate (Bartholomew et Hill, 1984). Moins de 2 % de nitrates sont retrouvés dans les fèces. Une faible quantité est excrétée dans la sueur [40  $\mu\text{mol/L}$  de nitrates et 3  $\mu\text{mol/L}$  de nitrites] (Weller *et al.*, 1996). Le passage du nitrate dans le lait suit un mécanisme de diffusion passive sans accumulation (Green *et al.*, 1981).

Le schéma (Fig 1. Métabolisme des nitrates, annexe 2) résume les principales étapes du métabolisme des nitrates, nitrites et de l'oxyde nitrique avec en parallèle les apports exogènes face à la synthèse endogène, la rétention dans les tissus et les voies d'excrétion. La circulation systémique est représentée par le cercle intitulé plasma. Une relation cellule endothéliale-érythrocyte pour la conversion en nitrates est indiquée. Des incertitudes existent chez l'homme pour ce métabolisme. Elles concernent les mécanismes de transport actif, certains commencent à être mieux définis pour les cellules humaines (mécanismes bien connus pour les plantes) dans les reins, les glandes salivaires et les érythrocytes.

### 5.2 – Méthémoglobinémie

La méthémoglobine est une forme d'hémoglobine dans laquelle le fer hémérique est oxydé sous forme ferrique et donc impropre à transporter l'oxygène. Au delà d'une quantité critique de méthémoglobine dans le sang (généralement 15% de la quantité d'hémoglobine), une cyanose apparaît.

<sup>12</sup> Ce métabolisme ne se retrouve pas chez les rongeurs.

Les méthémoglobinémies ont des origines diverses : déficit des enzymes méthémoglobines réductases, anomalies génétiques de l'hémoglobine qui la rendent plus sensible à l'oxydation, exposition à des médicaments ou composés chimiques oxydants comme les nitrites.

L'enfant de moins de 6 mois et plus particulièrement de moins de 3 mois est plus susceptible à la méthémoglobinémie car il est dépourvu de l'enzyme clé comme la NADH-cytochrome b5 réductase qui convertit la méthémoglobine en hémoglobine. C'est environ vers l'âge de 6 mois que l'enfant atteint le taux d'enzyme proche de celui de l'adulte.

Bien que l'on ait suggéré que la persistance d'un taux élevé d'hémoglobine fœtale contribue à augmenter la susceptibilité de la méthémoglobinémie, cette forme d'hémoglobine a le même potentiel redox et le même rendement d'autooxydation que l'hémoglobine A. Elle ne contribue donc pas à augmenter la vulnérabilité des enfants (Lukens, 1987).

La publication originale de Hunter Comly en 1945 dans JAMA a posé le problème du lien entre méthémoglobinémie et contamination de l'eau par les nitrates. Selon Comly, les nitrates de l'eau sont transformés en nitrites dans le tractus gastro-intestinal ; constatant que de nombreux enfants ne sont pas sensibles à l'action des nitrates présents dans l'eau, il suggère que la transformation nitrates-nitrites ne survient qu'en cas d'infection bactérienne du tube digestif supérieur, avant l'absorption des nitrates. Les nitrites ainsi formés pourraient réagir avec l'hémoglobine pour former de la méthémoglobine qui, en quantité suffisante, se traduit par cette teinte cyanosée caractéristique. Cette hypothèse s'est trouvée renforcée par d'autres travaux qui ont mis en évidence des associations entre méthémoglobinémie et taux élevé de nitrates dans les eaux des puits.

Ultérieurement, une étude menée par l'American Public Health Association sur 278 cas dont 39 décès de méthémoglobinémie, a montré que l'incidence de la méthémoglobinémie croît avec l'augmentation des taux de nitrates. Cinq cas étaient exposés à des teneurs en nitrates dans l'eau entre 48 et 88 mg/L, 36 entre 92 et 220 mg/L et 173 à plus de 220 mg/L (Walton G., 1951).

Comme aucun cas de méthémoglobinémie n'était observé pour un taux de nitrates inférieur à 10 ppm de nitrates (exprimé en N), soit environ 45 mg/L de nitrates (exprimé en  $\text{NO}_3^-$ )<sup>13</sup>, l'OMS s'est fondée sur cette valeur pour établir un niveau d'exposition maximal à 45 mg/L dans l'eau de boisson.

La conversion des nitrates en nitrites est principalement le fait de bactéries buccales et de l'appareil digestif. Dès lors, le risque de méthémoglobinémie dépendrait non seulement des nitrates, mais aussi du nombre et du type de bactéries de la flore buccale. Il est estimé chez l'adulte que 5% des nitrates peuvent être convertis en nitrites.

La compréhension des phénomènes a été modifiée depuis une vingtaine d'années. On a notamment observé que des diarrhées ou des troubles gastro-intestinaux pouvaient être associés à une méthémoglobinémie en l'absence de taux élevé de nitrates dans l'eau de boisson ou dans l'alimentation (Gebara et Goetting, 1994).

Comme la diarrhée était un symptôme prédominant dans la majorité des méthémoglobinémies liées à l'eau de boisson, la diarrhée, les infections ou l'inflammation du tractus gastro-intestinal seraient les principaux facteurs de la méthémoglobinémie.

De plus, les troubles digestifs de type vomissements et diarrhées ne sont pas habituellement observés dans les méthémoglobinémies d'origine médicamenteuses, métaboliques ou génétiques, de sorte que l'inflammation de la muqueuse gastro-intestinale pourrait expliquer la formation de méthémoglobine. L'oxyde nitrique est produit par les tissus en réponse à une infection ou une inflammation.

L'augmentation de l'expression d'un ARNm inductible de l'oxyde nitrique synthétase (iNOS mRNA) a été observée chez de jeunes enfants souffrant de maladies inflammatoires de l'intestin ; il en est de même au cours d'infections bactériennes au niveau des cellules épithéliales coliques (Gupta *et al.*, 1998, Levine *et al.*, 1998).

L'ion nitrite est un produit du métabolisme de l'oxyde nitrique et l'accentuation de l'expression de l'iNOS est accompagnée d'une augmentation des taux plasmatiques de nitrates et nitrites. Chez le jeune enfant, le système de réduction de la méthémoglobine peut être débordé (on rappelle que la méthémoglobinémie est un effet adverse bien documenté de l'usage thérapeutique de l'oxyde nitrique dans les syndromes de détresse respiratoire et de l'hypertension artérielle pulmonaire du nouveau né).

Ce mécanisme est aussi documenté chez des enfants souffrant de méthémoglobinémie sans exposition aux nitrates qui éliminent jusqu'à 10 fois plus de nitrates que leurs apports le laissent

<sup>13</sup> Les concentrations de nitrate et de nitrite dans l'eau sont souvent exprimées dans la littérature en «azote de nitrate» et «azote de nitrite». Les équivalents sont les suivants : 1 mg/L (exprimé en N) = 4,43 mg/L (exprimé en  $\text{NO}_3$ ), et 1 mg/L (exprimé en N) = 3,29 mg/L (exprimé en  $\text{NO}_2$ ).



prévoir. Comme les nitrites sont métabolisés en nitrates avant leur excrétion, cette élimination accrue est un reflet de la production endogène de nitrites (Hegesh et Siloah, 1982).

On constate aussi que les séjours hospitaliers sont, pour un même taux de méthémoglobine, largement supérieurs lorsque celle-ci résulte d'une association avec une gastro-entérite ou une déshydratation plutôt qu'une exposition à un médicament oxydant (Avner, 1990 in Avery 1999).

Les données épidémiologiques suggèrent que la méthémoglobinémie peut être d'origine infectieuse. Ainsi, dans une étude cas-témoin nichée au sein d'une cohorte réalisée en Roumanie sur 71 enfants alimentés par de l'eau de puits, Zeman et al. (2002) ont montré le rôle significatif de maladies diarrhéiques dans la survenue de la méthémoglobinémie. Plusieurs cas ont été documentés en cas d'infections de l'appareil urinaire, d'entérites bactériennes ou de septicémies (Jolly et al., 1995).

Une enquête Israélienne de 45 cas en 12 ans montre une variation saisonnière avec un pic en janvier et mois d'été, que les auteurs estiment contemporaine des gastro-entérites virales et bactériennes (Hanukoglu et Danon, 1996).

Ceci peut être mis en parallèle avec la diminution de l'incidence des méthémoglobinémies aux Etats-Unis alors même qu'au moins 40 000 enfants de moins de 6 mois sont exposés à une eau de boisson excédant la limite réglementaire (Knobeloch, 2000 in Fewtrell, 2004). Il a été suggéré que ceci résulte d'une moindre incidence des diarrhées infantiles même si aucune statistique précise dans ce domaine ne soit disponible. On ne peut formellement éliminer une sous déclaration des cas de méthémoglobinémies.

Cependant si la méthémoglobinémie de l'enfant est causée principalement par une sur-production endogène d'oxyde nitrique, comment interpréter les observations initiales reliant l'augmentation d'incidence de la maladie et la contamination par les nitrates ?

Une première explication en fonction des données précédentes est de postuler que ces taux plus élevés de nitrates témoignent d'une contamination microbiologique. Les apports d'eau lors de l'enquête sont essentiellement en rapport avec des puits dans des sites ruraux. Une autre explication est plus convaincante : les situations d'infection ou d'inflammation au niveau du tube digestif prédisposent à la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine à partir des nitrites issus du métabolisme de l'oxyde nitrique produit.

Dans de telles conditions, les nitrates exogènes exacerbent la formation de nitrites en inhibant la transformation des nitrites en ammoniacque par exemple. Ainsi, l'enzyme nitrite réductase est inhibée par des concentrations élevées de nitrates (Roediger et Radcliffe, 1988).

Ces observations concordent avec l'hypothèse initiale de Comly selon laquelle les nitrates de l'eau de boisson ne constitueraient pas la cause essentielle du phénomène. Ce mécanisme permet d'expliquer les grandes variations dans la susceptibilité à la méthémoglobinémie retrouvée chez l'enfant. Il est probable que l'exposition des enfants à de fortes doses de nitrates joue un rôle dans la sévérité de la méthémoglobinémie plus que dans sa genèse.

Néanmoins, il faut souligner que dès 1951, Walton a remarqué que sur les 278 cas de méthémoglobinémie de l'enfant décrits dans l'étude de l'American Public Health Association, le taux de nitrates n'était connu que dans 214 cas. De même, dans certains articles de synthèse (Fan *et al.* 1987 et Fan et Steinberg, 1996), il est noté que les concentrations en nitrates ne sont pas toujours précisées dans les cas de méthémoglobinémie.

L'Afssa a consulté les CAP-TV afin de recenser des cas de méthémoglobinémies survenant en France enregistrés dans le système d'information des centres antipoison et de toxicovigilance et d'identifier d'éventuels cas liés à une exposition aux nitrates. Les conclusions montrent que sur la période allant de juillet 1999 à janvier 2008, les circonstances de l'exposition des cas ont été considérées sous une hypothèse « nitrate » en dehors de l'exposition à des produits phytosanitaires (engrais...) dans deux dossiers seulement sur 357 recensés, sans que l'hypothèse d'une contamination de l'eau ne soit mentionnée.

### 5.3 – Troubles de la reproduction, anomalies du développement et autres effets

Chez le rat, la souris, le lapin, le hamster, le nitrate de sodium ou de potassium est dépourvu d'effet tératogène. Les études de reproduction chez le rat et la souris exposés aux nitrates et nitrites ne montrent pas de modification de la fertilité, du poids de naissance, de la taille et du sex-ratio. Seule l'exposition aux nitrites (nitrite de sodium) a pu être associée à une altération de la croissance de jeunes chiots et de leur statut hématologique, sans toxicité maternelle (Roth *et al.*, 1987). Une DSEO a été calculée à 500 ppm de nitrite de sodium. Dès lors en retenant un taux de conversion de nitrates en nitrites de 10%, et pour une consommation de 2 litres par jour, la valeur de 45 mg/L est affectée d'un fort coefficient de sécurité. Dans la descendance de rates exposées à du nitrate de potassium pendant leur gestation, une altération du développement comportemental et des procédures

d'apprentissage a été rapportée par Markel *et al.* (1989). Ces données ont été utilisées par la NAS pour calculer une dose d'effet en nitrates chez l'adulte de 317 mg/j basée sur l'observation d'altérations neuro-comportementales à 7,5 mg/kg p.c./j.

Sur la base d'une revue des travaux effectués depuis 1980, Fan et Steinberg (1996) concluent que l'apparition des effets toxiques sur la reproduction après exposition aux nitrites, ne se produit que pour des concentrations de 100 à 1000 fois supérieures aux valeurs limites de qualité dans l'eau des nitrates et nitrites respectivement. Le National Toxicology Program (NTP, 1990) aboutit à une conclusion similaire d'après une étude expérimentale chez la souris Swiss CD1 : le nitrite de sodium dans l'eau étant dénué d'effet toxique pour la reproduction jusqu'à la dose de 425 mg/kg p.c./j.

Les données chez l'homme sont parcellaires. Fan *et al.* (1987) ont relevé des anomalies de la reproduction chez l'homme pour des doses élevées de nitrites (45 ppm). Les études épidémiologiques n'ont pas permis jusqu'ici d'établir une relation directe entre les avortements spontanés, les effets tératogènes et/ou les effets sur le développement post natal et les concentrations en nitrates dans les eaux de boisson. C'est la conclusion de Manassaram *et al.* (2006) qui recommandent des études complémentaires.

Globalement, ces travaux n'apportent pas d'éléments convaincants et significatifs pour établir une relation entre exposition aux nitrates et troubles de la reproduction. L'étude de Bove (1992) dans le New Jersey s'est intéressée plus particulièrement à la relation entre les anomalies de la reproduction et les teneurs en nitrates de l'eau de consommation de 75 villes. Les conclusions sont les suivantes : « *l'association positive notée dans cette étude n'apporte pas de preuves suffisantes pour soutenir l'hypothèse que les nitrates causent des troubles de la reproduction aux taux habituellement rencontrés dans les systèmes publics de distribution d'eau potable....* ». Ceci reflète l'opinion générale des études.

#### 5.4 – Mutagenicité, génotoxicité, et cancérogénicité

##### 5.4.1 Mutagenicité et génotoxicité des ions nitrates et nitrites

L'ion nitrate n'est pas mutagène pour les bactéries et les cellules de mammifères *in vitro*. Des aberrations chromosomiques ont été observées chez le rat après l'ingestion de nitrates, mais elles pourraient provenir de la formation exogène de composés N-nitrosés (Speijers, 1989).

Si le caractère mutagène des nitrites n'est pas prouvé, en revanche, les produits des réactions de nitrosation sont mutagènes (Cf. 5.4.2). Le nitrite de sodium induit des lésions cytogénétiques *in vivo* chez le rat, la souris et le lapin, et *in vitro* dans des cellules BSC-1 et HeLa (Lucas *et al.*, 1987). Les résultats des études *in vivo* ont été toutefois controversés (Speijers, 1989 ; OMS, 2005).

##### 5.4.2 Les composés N-Nitrosés (CNO)

La question de savoir si l'exposition aux nitrates peut constituer un facteur de risque de cancer pour l'homme est loin d'être résolue. Elle a été récemment l'objet de deux symposiums résumés et discutés dans deux publications (Ward *et al.*, 2005 ; Van Grinsven *et al.*, 2006).

Les CNO figurent parmi les plus puissants cancérogènes connus et de faibles doses de ces CNO suffisent à induire des tumeurs chez l'animal (Lijinsky, 1987, 1990, 1992)

##### Formation des composés N-Nitrosés (CNO)

La réduction du nitrate en nitrite ou en NO génère, par réaction avec des substrats azotés, des agents nitrosants pouvant conduire aux CNO cancérogènes (Challis et Challis, 1982 ; Pignatelli *et al.*, 1985 ; Williams, 1988). Les diverses espèces nitrosantes ( $\text{NO}^+$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}_4$ , NOX) peuvent être responsables de la nitrosation dans des conditions et milieux variés (Pignatelli, 1994; Bartsch *et al.*, 1988) selon l'équation générale :



Les principaux agents nitrosants sont répertoriés dans le tableau 5.4.2 avec les conditions de leur formation, en solution aqueuse, en phase gazeuse ou lipidique.

Tableau 5.4.2 : Principales espèces nitrosantes formées à partir du nitrite et des oxydes d'azote

Espèces nitrosantes (YNO)	Equilibre réactionnel	Conditions de formation
$\text{N}_2\text{O}_3$ ( $\text{O}_2\text{N-NO}$ )	$2\text{HNO}_2 \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}$ $\text{NO} + \text{NO}_2 \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_3$	Milieux aqueux/acidité modérée. Phase gazeuse, milieu aqueux, neutralité/basicité, phase lipidique.
$\text{NO}^+$ ( $\text{H}_2\text{O}$ ) $\text{NO}^+$ $\text{XNO}$ (X=Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , SCN <sup>-</sup> )	$\text{HNO}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{NO}^+ + \text{H}_2\text{O}$ $\text{HNO}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{H}_2\text{O})\text{NO}^+$ $\text{H}^+ + \text{HNO}_2 + \text{X}^- \rightleftharpoons \text{XNO} + \text{H}_2\text{O}$	Milieu aqueux, forte acidité.
$\text{N}_2\text{O}_4$ $\text{O}_2\text{NO-NO}$	$2\text{NO}_2 \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_4$ $2\text{NO} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_4$	Milieu aqueux, acidité modérée présence de nucléophile X. Phase gazeuse, milieu aqueux, neutralité/basicité, phase lipidique.

D'après Pignatelli, 1994; Bartsch et coll., 1988

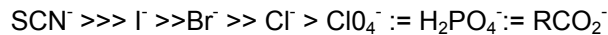
L'ion  $\text{NO}_2^-$  et l'acide nitreux ne réagissent jamais directement avec le substrat aminé et des conditions acides (pH < 5) sont nécessaires pour générer l'entité nitrosante YNO ; seule la forme non protonée de l'amine qui est en équilibre avec son acide conjugué réagit avec YNO. La vitesse de formation d'une nitrosamine varie donc en fonction de la concentration de l'amine mais surtout de celle du nitrite. Elle dépend aussi du pH et de la basicité de l'amine. Les amines de moindre basicité sont les plus rapidement nitrosées et les formes non protonées des amines de basicité très différente ont des réactivités similaires envers  $\text{N}_2\text{O}_3$ . La cinétique réactionnelle peut être modifiée par la présence d'anions Y<sup>-</sup> susceptibles d'agir comme catalyseurs.

Outre les amines secondaires et aminoacides, de nombreux autres substrats sont susceptibles de produire des CNO, tels que les amides et composés assimilés (urées, carbamates, guanidines), les amines primaires et tertiaires, les sels d'ammonium quaternaire, les oxydes d'amine et les peptides et protéines.

Les composés aminés faiblement basiques tels que certaines amines aromatiques, les amides, urées, carbamates et guanidines ne sont pas assez réactifs pour agir directement avec  $\text{N}_2\text{O}_3$ . Cependant, à pH < 2, la nitrosation a lieu selon une autre voie réactionnelle impliquant l'espèce aminée neutre et l'ion nitrosonium hydraté ou non ( $\text{H}_2\text{NO}^+$  ;  $\text{NO}^+$ ). La réaction, lente à pH > 3, devient plus rapide lorsque l'acidité est plus forte. De pH 3 à pH 1 sa vitesse augmente d'un facteur 10 environ pour chaque abaissement d'une unité pH et on n'observe pas de pH optimum. La réactivité des substrats nitrosables dépend très largement de leurs structures.

Les oxydes d'azote sont formés par réduction chimique ou microbiologique des nitrites et nitrates.  $\text{N}_2\text{O}_3$  et  $\text{N}_2\text{O}_4$  sont des agents nitrosants directs,  $\text{NO}_2$  ne l'est que sous forme de dimère et NO ne développe une activité nitrosante qu'après oxydation ou en présence de certains catalyseurs. Par réaction avec les composés aminés,  $\text{N}_2\text{O}_3$  conduit aux CNO alors que  $\text{N}_2\text{O}_4$  donne un mélange de CNO et de composés nitrés. Ces réactions ont lieu en phase gazeuse, dans les milieux lipidiques et en solutions aqueuses neutres ou alcalines. La formation de CNO à partir des oxydes d'azote suit le mécanisme général et est en général plus rapide et plus complète qu'avec les solutions aqueuses d'acide nitreux. La rapidité de la réaction est essentiellement liée à l'absence d'acidité du milieu qui s'accompagne d'une concentration plus forte d'amine libre.

Certains anions Y catalysent la formation des nitrosamines en solutions aqueuses de pH 2 à 5. Parmi les différents catalyseurs anioniques étudiés, le thiocyanate (SCN<sup>-</sup>) est le plus efficace. La séquence observée est dans l'ordre décroissant de leurs pouvoirs promoteurs :



Le thiocyanate SCN<sup>-</sup> et l'ion I<sup>-</sup> sont importants car tous deux présents *in vivo*, le premier étant notamment abondant dans la salive des fumeurs.

Une inhibition efficace de la N-nitrosation est accomplie par les composés qui piègent rapidement les agents nitrosants en les convertissant en produits inactifs. Ces inhibiteurs réduisent HNO<sub>2</sub> en N<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O ou NO. Ce dernier n'agit comme espèce nitrosante qu'en présence de catalyseurs tel que l'oxygène. En raison de la compétitivité entre le substrat nitrosable et les inhibiteurs pour les agents nitrosants, le degré d'inhibition dépend des concentrations globales et relatives des agents nitrosants, de l'inhibiteur et du substrat azoté ainsi que des vitesses relatives de la réaction de l'agent nitrosant avec l'inhibiteur et le substrat azoté.

Une grande variété de substances, tels que les vitamines C et E, des composés polyphénoliques et mélanges naturels les contenant peuvent inhiber la formation de CNO mais celle-ci n'est jamais totale (Cf. Annexe 3 – Composés et mélanges naturels inhibiteurs de la N-nitrosation). En particulier, légumes et fruits sont très riches en composés inhibiteurs de la N-nitrosation.

Alors que les nitrosamines volatiles et les nitrosaminoacides ont été beaucoup étudiés, les CNO non volatiles de structures inconnues constituent la majorité des CNO totaux présents dans les fluides biologiques, fèces et certains aliments (Pignatelli *et al.*, 1994 ; Massey *et al.*, 1990, Rowland *et al.*, 1991 ; Jakszyn *et al.*, 2006). La nature des CNO formés *in vivo* ou préformés dans l'environnement reste encore largement méconnue (Bartsch *et al.*, 1988 ; Pignatelli *et al.*, 1985).

## La nitrosation endogène

### 1) Réduction du nitrate (Cf. 5.1 métabolisme des nitrates et nitrites)

La réduction du nitrate est réalisée par une large variété de microorganismes (Shapiro, 1991). L'étude de l'absorption et du métabolisme du nitrate montre qu'il peut être une source de nitrite dans différents compartiments *in vivo*. Les bactéries buccales et gastro-intestinales peuvent générer NO à partir de nitrates et de nitrites (Sobko *et al.*, 2005, 2006).

### 2) Nitrosation endogène chez l'homme

La formation de N-nitrosodiméthylamine (NDMA) à partir de précurseurs a été étudiée dans des modèles *in vitro* utilisant l'incubation de précurseurs avec la salive ou le suc gastrique dans des conditions simulant les conditions physiologiques (Walker, 1991). Quelques études ont été réalisées à partir de produits alimentaires plus ou moins riches en précurseurs azotés nitrosables auxquels était ajouté de la salive artificielle ou du suc gastrique (Walters *et al.*, 1979 ; Groenen *et al.*, 1982 ; Sen *et al.*, 1985). Plus récemment, un modèle gastro-intestinal dynamique simulant des conditions physiologiques variées dans le compartiment gastrique a été utilisé pour étudier la formation de NDMA après prise de diméthylamine ou de morue comme source d'amines conjointement avec du nitrite (Krul *et al.*, 2004).

Des études *in vivo* ont également été conduites, parmi lesquelles :

- Après ingestion par des volontaires de repas comprenant des œufs, du lait et viande de porc en conserve, l'analyse des contenus de l'estomac a révélé la présence de N-nitrosopipéridine et de N-nitrosopyrrolidine (Walters *et al.*, 1979).
- Une méthode (test NPRO) basée sur la mesure de nitrosoproline urinaire après ingestion de proline et nitrate a été développée (Ohshima et Bartsch, 1981). Elle a été étendue à la mesure des N-nitrosaminoacides urinaires. Plusieurs études ont montré une relation directe entre l'ingestion de nitrates et la formation endogène de CNO. Ainsi, la prise de nitrates dans l'eau a été associée à une augmentation de la capacité à réaliser la nitrosation de la proline (Mirvish *et al.*, 1992 ; Moller *et al.*, 1989 ; Vermeer *et al.*, 1998). La mesure de l'excrétion urinaire de N-nitrosaminoacides a été utilisée lors d'études cliniques et épidémiologiques pour étudier l'alimentation, le mode de vie, les facteurs individuels et les différents états pathologiques qui pourraient affecter la nitrosation endogène chez l'homme (Mirvish, 1995 ; Moller *et al.*, 1989 ; Rowland *et al.*, 1991). Ainsi la synthèse endogène de CNO s'est avérée plus importante chez les sujets des régions à haut risque pour les cancers de l'estomac, de l'œsophage, de la

bouche et de la vessie. L'exposition individuelle aux CNO endogènes était largement affectée par des modulateurs présents dans l'alimentation tels les vitamines C et E, des composés phénoliques des végétaux (acides férulique, caféique et chlorogénique) et des mélanges complexes (jus de fruits, café, thé, extrait de noix de bétel). La présence d'une inflammation, d'une infection bactérienne ou d'une infection parasitaire s'accompagnait d'une forte augmentation des CNO endogènes (Bartsch *et al.*, 1988, 1989 ; Mirvish, 1995).

- La prise de nitrate équivalente à la dose journalière acceptable établie par le JECFA en 2003 (3,7 mg/kg p.c.) a conduit à l'augmentation de l'excrétion de NDMA (concentration moyenne multipliée par 2,5 à 3) dans l'urine lorsqu'elle était associée à la consommation de poissons riches en précurseurs aminés (Vermeer *et al.*, 1998 ; van Maanen *et al.*, 1998).

En résumé, les nombreuses études ont permis d'établir que :

- a) l'exposition au nitrate peut être corrélée à la capacité de nitrosation endogène ;
- b) la nitrosation endogène est modulée par des composés inhibiteurs tels que les vitamines C, E, des composés phénoliques et des mélanges naturels complexes ;
- c) les teneurs en nitrosoaminoacides urinaires sont plus élevées pour certaines populations à fort taux d'incidence de cancer (cancer gastrique au Japon (Bartsch *et al.*, 1989), en Pologne (Zatonski *et al.*, 1989), en Colombie (Stillwell *et al.*, 1991) et au Costa Rica (Sierra *et al.*, 1993) ; cancer œsogastrique au Nord de la Chine (Bartsch *et al.*, 1989 ; Lu *et al.*, 1986) ; cancer du nasopharynx au sud de la Chine (Zeng *et al.*, 1993)).

Bien que ces résultats ne constituent pas une preuve de l'implication de la nitrosation endogène dans le cancer chez l'homme, ils indiquent un rôle possible des CNO formés *in vivo* dans l'étiologie de certains cancers humains. La démonstration de l'efficacité de certaines vitamines à inhiber la nitrosation apporte une interprétation plausible des résultats des études épidémiologiques montrant des effets protecteurs des fruits et légumes (sources de vitamines et polyphénols) contre la cancérogenèse, en particulier dans l'estomac (Bartsch *et al.*, 1988).

Des études récentes ont montré que le cardia et la jonction œsogastrique seraient particulièrement sujets à un stress nitrosant (Moriya *et al.*, 2002 ; Suzuki *et al.*, 2003 et 2005 ; Mc Coll *et al.*, 2005 et 2006 ; Iijima et Shimosagawa, 2006). Chez des volontaires sains, une acidité importante échappant à un effet tampon des aliments persiste plusieurs heures au niveau du cardia. Chez les individus avec reflux gastrique, la salive se trouve en contact avec l'acidité du suc gastrique au niveau du bas œsophage. Or, le pH est un facteur de nitrosation connu. L'incidence d'adénocarcinome de ces deux sites anatomiques est en notable augmentation depuis quelques années (Blot *et al.*, 1991 ; Okabayashi *et al.*, 2000).

### **3) Quantification de la nitrosation endogène**

Si la formation endogène de CNO fait maintenant l'objet d'un consensus, sa quantification précise et sa contribution à l'exposition humaine totale aux CNO reste matière à débat (Gangolli *et al.*, 1994). Des modèles mathématiques (Licht et Deen, 1988) et certaines études *in vivo* utilisant la NPRO ont indiqué que l'exposition endogène pourrait être moins importante que l'exposition exogène (Bartsch et Spiegelhalder, 1996). Cependant, d'autres auteurs sont d'un avis contraire, la contribution de la synthèse endogène de CNO pourrait être de 45 à 75% (Chilvers *et al.*, 1984 ; Moller *et al.*, 1989 ; Tricker, 1997 ; Krul *et al.*, 2004). Ces derniers ont étudié la formation de CNO cancérogènes alors que la NPRO n'était pas cancérogène (Ohshima et Bartsch, 1981 ; Shapiro *et al.*, 1991) ; son utilisation pour extrapoler les résultats obtenus à la quantification de la synthèse endogène de CNO cancérogènes pose des interrogations (Krul *et al.*, 2004). L'importance de la production endogène de CNO a été confortée par le niveau particulièrement élevé de CNO dans les selles de l'ordre de 300 µg/jour comparé à celui apporté par l'alimentation d'environ 13 µg/jour (Bingham *et al.*, 1996). La prépondérance de l'exposition endogène aux CNO par rapport à l'exposition exogène a été mise en évidence dans une étude récente (Jakszyn *et al.*, 2006) réalisée par European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST).

La nature et la source d'exposition aux nitrates paraît d'une importance capitale. Alors que les légumes apportent conjointement aux nitrates des éléments protecteurs, inhibiteurs de la nitrosation (e.g. vitamine C, polyphénols), l'eau est dépourvue de tels éléments. Lorsque la concentration de nitrates dans l'eau potable dépasse la limite de qualité, l'eau peut contribuer substantiellement à l'apport total de nitrates (Chilvers *et al.*, 1984).

L'élévation du pH de l'estomac peut permettre une prolifération bactérienne et la formation subséquente de NO, de nitrite et éventuellement de CNO. La fréquence d'une élévation de pH gastrique (achlorhydrie) même asymptomatique augmente avec l'âge des personnes. De plus, les

jeunes enfants ont une acidité gastrique moindre (Speijers *et al.*, 1989). Pour ces personnes, ainsi que les patients traités pour diminuer leur acidité gastrique ou ingérant des médicaments nitrosables, l'exposition aux nitrates pourrait présenter plus de risque.

### 5.4.3 Études épidémiologiques

On ne dispose pratiquement pas d'études épidémiologiques pertinentes pour évaluer le risque de cancer associé aux nitrates dans l'eau potable prenant en compte des données d'exposition individuelle et des informations sur les précurseurs, catalyseurs et inhibiteurs de la nitrosation, de sorte qu'aucune conclusion définitive ne peut être tirée.

La plupart de ces études sont de type écologique et visent à tester une possible corrélation entre le taux de mortalité ou la fréquence de certains cancers et la concentration de nitrates dans l'eau potable au niveau d'une ville ou d'une région de différents pays (Annexe 4, tableau et Cantor, 1997). Les premières études ont porté sur la mortalité par cancer de l'estomac en se référant aux valeurs de nitrates concomitantes avec la période du décès. Les résultats sont divers, certaines révélant une association positive, d'autres ne rapportant aucune association, et une étude montrant une association inverse (Annexe 4, tableau). Dans la majorité des études, l'exposition aux nitrates dans l'eau n'était pas évaluée pour la période pertinente concernant l'induction du cancer. Des études écologiques récentes en Slovaquie, Espagne et Hongrie, utilisant des mesures historiques de concentrations de nitrates avec des niveaux d'exposition proches ou au dessus du niveau réglementaire maximum de contamination, ont montré une corrélation positive avec la fréquence ou le taux de mortalité du cancer gastrique (Gulis *et al.*, 2002 ; Morales-Suarez-Varela *et al.*, 1995 ; Sandor *et al.*, 1998 et 2001). Deux de ces études ont concerné aussi d'autres sites de cancer. En Slovaquie, la fréquence de lymphomes non Hodgkinien et celle du cancer colorectal étaient plus élevées chez les personnes exposées à des concentrations de nitrates dans l'eau du réseau publique de 20 à 50 mg/L (Gulis *et al.*, 2002). Aucune association n'a été observée concernant la fréquence du cancer de la vessie ou du rein. En Espagne, il existait une corrélation positive entre les concentrations de nitrates dans l'eau potable et la mortalité par cancer de la prostate, mais aucune relation avec la mortalité du cancer du colon ou de la vessie (Morales-Suarez-Varela *et al.*, 1995). Une étude écologique conduite en Grande Bretagne (Barret *et al.*, 1998) a trouvé une association du risque de cancer du cerveau avec l'exposition aux nitrates dans l'eau potable pour des concentrations supérieures à 30 mg/L. Une ancienne étude canadienne (Thouez *et al.*, 1981) avait rapporté la même conclusion pour une exposition à une concentration de nitrates supérieure à la limite réglementaire.

Des études cas témoin et des études de cohorte ont évalué les concentrations historiques de nitrates dans les réseaux publics d'eau potable, le plus souvent  $\leq 45$  mg/L, et le risque de plusieurs cancers (Annexe 4, tableau). Quelques-unes ont pris en compte des facteurs affectant la nitrosation tel que la concentration en vitamine C. Une étude de cohorte menée aux Pays-Bas (Van Loon *et al.*, 1998) n'a pas trouvé d'association entre le risque de cancer de l'estomac et la teneur en nitrates dans l'eau potable inférieure à la limite réglementaire. Une étude de cohorte réalisée en Allemagne (Volkmer *et al.*, 2005) a rapporté une association de la fréquence de cancer de la vessie avec le niveau de nitrates dans l'eau. Dans la même étude, une telle association n'a pas été trouvée pour le cancer du rein ou de la prostate. Une étude de cohorte prospective conduite aux USA sur une population de femmes a montré une multiplication respectivement par 2,8 et 1,8 du risque de cancer de la vessie et de l'ovaire associée à une exposition à long terme à des niveaux de nitrates supérieurs à 11 mg/L (Weyer *et al.*, 2001). Au cours de la même étude, une association inverse était trouvée pour le cancer de l'utérus et du rectum et aucune association significative pour le lymphome non Hodgkinien, la leucémie, le mélanome, le cancer du colon, du pancréas, du rein ou du poumon. Des études cas témoin américaines de cancer de la vessie (Ward *et al.*, 2003), du cerveau (Ward *et al.*, 2004), du pancréas (Coss *et al.*, 2004), du colon et du rectum (De Roos *et al.*, 2003) n'ont pas montré d'association entre le risque de cancer et les concentrations moyennes de nitrates. Ces études prenaient en compte certains inhibiteurs et précurseurs de la nitrosation. Ainsi, le risque de cancer du colon était significativement plus élevé pour des sous groupes exposés à long terme à une teneur de nitrates dans l'eau supérieure à 22 mg/L et une faible consommation de vitamine C ou une forte consommation de viande, tous deux favorables à la nitrosation (De Roos *et al.*, 2003).

Deux études cas témoin conduites par une même équipe américaine concernant le lymphome non Hodgkinien ont obtenu des résultats contradictoires. Dans la première, une association positive significative est observée entre la moyenne de la teneur en nitrates dans l'eau potable et le risque, celui-ci étant multiplié par deux lorsque la teneur en nitrates était supérieure à 18 mg/L (Ward *et al.*, 1996). Dans la deuxième étude et pour des niveaux d'exposition similaires, aucune association n'a été trouvée (Ward *et al.*, 2006). Une troisième étude américaine n'a pas montré d'association entre le

risque de lymphome non Hodgkinien et le niveau d'exposition aux nitrates dans l'eau jusqu'à une teneur moyenne de nitrates de 10,6 mg/L (Freemann *et al.*, 2000). Une étude cas témoin conduite en Italie, la fréquence de lymphome non Hodgkinien a été associée à la concentration de nitrates dans l'eau mais seulement pour les sujets masculins (Cocco *et al.*, 2003).

Deux études cas témoin réalisées aux USA (Ward *et al.*, 2005) et en Allemagne (Steindorf *et al.*, 1994) n'ont pas montré d'association entre l'exposition à long terme aux nitrates dans l'eau potable et le cancer du cerveau chez l'adulte. La prise en compte de la consommation de vitamine C dans l'étude américaine ne modifiait pas les résultats. Ces deux études sont en contradiction avec les deux études écologiques précédemment notées (Barret *et al.*, 1998 ; Thouez *et al.*, 1981). Des CNO spécifiques s'étant révélés des neurocancérogènes transplacentaux chez l'animal, une étude américaine du risque de cancer du cerveau chez l'enfant en fonction de l'exposition aux nitrates pendant la grossesse a été réalisée (Mueller *et al.*, 2001). Les concentrations de nitrates et de nitrites dans l'eau potable ont été mesurées souvent plusieurs années après la grossesse. Globalement, elles n'étaient pas associées avec le risque. Cependant, les enfants des femmes d'une des régions étudiées (état de Washington, ouest) qui utilisaient l'eau de puits comme source d'eau potable durant la grossesse avaient un risque accru de cancer du cerveau.

Les divergences persistantes de ces études épidémiologiques sont liées notamment aux difficultés de la mesure de l'exposition aux nitrates. Il existe de grandes incertitudes sur l'évaluation exacte de l'exposition individuelle et cumulative. Les mouvements de population et la période de latence entre l'exposition et le diagnostic de la maladie sont des éléments souvent difficiles à prendre en compte avec suffisamment de précision. Les effets cancérigènes potentiels liés aux nitrates dans l'eau potable sont le résultat d'interactions complexes entre les nitrates ingérés et de multiples facteurs impliqués dans la formation endogène de CNO : a) le métabolisme des nitrates et en particulier, la présence, les espèces, l'activité nitrate-réductrice de la flore bactérienne *in vivo* et le potentiel catalytique de la nitrosation à pH neutre ; b) la nature et les concentrations des substrats nitrosables ; c) la présence de catalyseurs ou d'inhibiteurs ; d) des états physiologiques favorisant la nitrosation (achlorhydrie dans l'estomac, infection, inflammation) et autres facteurs individuels tels que le pH des divers sites possibles de nitrosation, le flux salivaire, l'âge, la capacité de métabolisation des cancérigènes et de réparation des dommages génomiques.

#### 5.4.4 Classement des nitrates et nitrites par le CIRC

Le Centre International de Recherche sur le Cancer a réévalué la cancérigénicité des nitrates et nitrites ingérés et propose une nouvelle classification pour ces substances (CIRC, 2006) :

- *« Il existe des preuves limitées chez l'homme concernant la cancérigénicité des nitrites dans les aliments. Les nitrites dans les aliments sont associés à une augmentation de l'incidence du cancer de l'estomac.*
- *Il n'existe pas de preuves suffisantes chez l'homme concernant la cancérigénicité des nitrates dans les aliments.*
- *Il n'existe pas de preuves suffisantes chez l'homme concernant la cancérigénicité des nitrates dans l'eau de boisson.*
- *Il existe des preuves suffisantes suite à des expérimentations animales concernant la cancérigénicité des nitrites en combinaison avec des amines ou des amides.*
- *Il existe des preuves limitées suite à des expérimentations animales concernant la cancérigénicité des nitrites per se.*
- *Il n'existe pas de preuves suffisantes suite à des expérimentations animales concernant la cancérigénicité des nitrates.*

*L'ingestion de nitrates ou de nitrites sous certaines conditions qui entraînent une nitrosation endogène est probablement cancérigène pour l'homme (Groupe 2A).*

*Le mécanisme sous-jacent est la nitrosation endogène, qui dans le cas de l'ion nitrate, doit être précédée d'une réduction en nitrites. Les ions nitrates et nitrites sont interconvertibles *in vivo*. Les agents nitrosants qui proviennent des nitrites sous des conditions gastriques acides, réagissent aisément avec les composés nitrosables, surtout les amines secondaires et les alkyl amides, afin de générer des composés N-Nitrosés. Un grand nombre de composés N-Nitrosés sont cancérigènes. »*

## 6 - Valeurs de référence

### 6.1 - Valeurs toxicologiques de référence

#### 6.1.1 - Nitrates

##### 6.1.1.1 Historique des évaluations scientifiques par le JECFA

###### Première évaluation JECFA 1961 / 6<sup>ème</sup> meeting

La première évaluation officielle des risques liés à l'ingestion de nitrates et nitrites a été conduite par le JECFA en 1961. Cette première évaluation a été réalisée uniquement au regard de l'utilisation des nitrates et nitrites comme additifs alimentaires.

La DSENO a été dérivée d'une étude de toxicité long terme chez le rat et d'une étude de toxicité court terme chez les chiens. L'effet critique retenu était un ralentissement de la croissance. A partir d'une DSENO de 500 mg/kg p.c./j pour les nitrates et un facteur de sécurité de 100, le JECFA propose une DJA de 0-5 mg/kg p.c./j exprimé en nitrate de sodium. Le JECFA indique alors que cette évaluation n'est pas pertinente pour les enfants de moins de 6 mois.

###### Deuxième et troisième évaluation du JECFA 1965 (8<sup>ème</sup> Meeting) et 1974 (17<sup>ème</sup> Meeting)

Le JECFA reconduit la DJA des nitrates.

###### Quatrième évaluation JECFA 1994 / 44<sup>ème</sup> meeting 1994

Cette évaluation a été conduite bénéficiant de nouvelles études toxicologiques et épidémiologiques, tant pour les nitrates que pour les nitrites.

Pour les nitrates, le JECFA a conduit une évaluation prenant en compte la transformation endogène des nitrates en nitrites. Il indique en conséquence que le rat n'est pas un modèle satisfaisant pour l'évaluation de la toxicité des nitrates. Toutefois, considérant que les données sur d'autres espèces animales ne sont pas suffisantes, les résultats d'expérimentations sur les rats restent pris en compte, en leur appliquant le taux de conversion nitrates/nitrites.

Sur la base d'une étude long terme chez le rat (Lehman, 1958), le JECFA détermine une DSENO de 370 mg/kg p.c./j et en dérive une DJA de 3,7 mg/kg p.c./j (exprimé en nitrate).

Le JECFA a également calculé une DSENO transposée (DSENO<sub>t</sub>) à partir de la DSENO des nitrites (6,7 mg/kg p.c./j) et tenant compte d'un taux de conversion nitrates en nitrites compris entre 5 et 20 %. Sur cette base, la DSENO<sub>t</sub> est comprise entre 40 et 160 mg/kg p.c./j, et la DJA qui en dérive est égale à 0-3,2 mg/kg p.c./j. Le JECFA considérant que les deux valeurs (DSENO et DSENO<sub>t</sub>) sont du même ordre de grandeur, retient la DJA de 3,7 mg/kg p.c./j.

L'ion nitrate n'est pas génotoxique et non cancérigène, sauf à très haute dose de nitrates et de précurseurs de composés N-nitrosés.

En raison de la conversion possible des nitrates en nitrites et de la susceptibilité particulière des nourrissons de moins de trois mois, le JECFA indique que cette DJA ne s'applique pas à cette population sensible.

###### Cinquième évaluation JECFA 2003 / 59<sup>ème</sup> meeting

Le JECFA souligne qu'il convient d'évaluer les nitrates sur la base de leur conversion *in vivo* en nitrites mais indique que les nouvelles données relatives aux nitrites ne remettent pas en cause l'évaluation des nitrates. Le JECFA a donc reconduit la DJA précédemment fixée.

Tableau 6.1.1.1 : Evolution des VTR proposées par le JECFA pour l'ingestion de nitrates

Date	Effet critique retenu	NOAEL mg/kg p.c./j	FS	DJA mg/kg p.c./j
1961	Gain de poids corporel (étude long terme, rats et étude court terme, chiens)	500 (exprimé en NaNO <sub>3</sub> )	100	0-5 (exprimé en NaNO <sub>3</sub> )
1994	(rats, étude long terme)	370 (exprimé en NO <sub>3</sub> )	100	0-3,7 (exprimé en NO <sub>3</sub> )
	Transposition de la NOEL nitrite	160 (exprimé en NO <sub>3</sub> )	50	0-3,2 (exprimé en NO <sub>3</sub> )
2003	(rats, étude long terme)	370 (exprimé en NO <sub>3</sub> )	100	0-3,7 (exprimé en NO <sub>3</sub> )



### 6.1.1.2 Historique des évaluations scientifiques au niveau européen

#### Scientific Committee on Food de la Commission Européenne

Ce comité a conclu que les études sur du long terme chez l'animal ne montrent pas que les nitrates ou les nitrites sont directement cancérogènes et qu'il n'existe pas de données quantifiées de la formation endogène de composés N-nitrosés cancérogènes après une exposition à des niveaux réalistes aux nitrates et à des précurseurs N-nitrosables. De plus, le comité indique que les études épidémiologiques disponibles ne permettent pas de conclure quant à la cancérogénicité des nitrates chez l'homme. Le comité confirme donc la DJA proposée en 1990 de 3,7 mg NO<sub>3</sub>/kg p.c./jour (SCF, 1995).

Le SCF confirme que cette DJA est applicable à toutes les sources d'exposition alimentaire.

Par ailleurs, l'**Agence Européenne de Sécurité des Aliments (AESA – EFSA)** a remis un avis à la Commission Européenne en avril 2008 concernant l'évaluation des risques et des bénéfices liés à la présence de nitrates dans les légumes à l'échelle européenne. Pour la caractérisation du risque sanitaire, l'AESA retient la DJA des nitrates proposée par le JECFA en 2003.

### 6.1.1.3 VTR proposée par l'US EPA

Sur la base des travaux de Bosch (1950) et Walton (1951) retenant pour effet les premières manifestations cliniques de la méthémoglobinémie chez l'enfant de moins de 3 mois, une DSENO a été fixée à 1,6 mg/kg p.c./j (exprimé en N), soit 7 mg/kg p.c./j (exprimé en NO<sub>3</sub>), ce qui correspond à une concentration en nitrates de 44 mg/L avec une ingestion quotidienne d'eau de 0,64 L soit 0,16 L/kg p.c./j. Cette limite est aussi la Dose de Référence sans application d'un facteur d'incertitude supplémentaire puisque l'US EPA considère qu'il s'agit de l'effet toxique « critique » de la population la plus sensible (IRIS, 1991).

Une DMENO est établie à 1,8-3,2 mg/kg p.c./j (exprimé en N). On voit que la marge de sécurité entre DSENO et DMENO est faible.

### 6.1.1.4 VTR proposées pour les nitrates

Le tableau 6.1.1.4 récapitule les VTR proposées par différentes instances.

Tableau 6.1.1.4 : Récapitulatif des études prises en compte pour la construction des VTR

Source	VTR	Valeur	Etude	Population	Effet
AESA (2008)	Idem JECFA (2003)				
JECFA (2003)		3,7 mg/kg p.c./j	Lehman, 1958	rat	Inhibition de la croissance
SCF (1995)		3,7 mg/kg p.c./j	Maekawa, 1982	rat	Diminution de la prise de poids
IRIS EPA (1991)	RfD reference dose	7 mg/kg p.c./j	Bosch (1950) et Walton (1951)	Nourrisson	méthémoglobinémie

#### Conclusion sur les VTR proposées par ces instances

La DJA des nitrates proposée par le JECFA et le SCF est construite à partir d'études de toxicité chroniques chez le rat. Or, l'OMS déclare dès 2003 ne pas prendre en compte les expérimentations chez le rat car ce modèle toxicologique n'est pas adéquat pour l'homme, du fait de l'absence de recirculation entéro-salivaire et donc, d'une moindre réduction des nitrates en nitrites. Cependant, cette DJA a été maintenue par le JECFA en 2003. Si en 1994, le JECFA avait précisé que la DJA ne devait pas être appliquée aux nourrissons, cette restriction n'apparaît pas dans ses évaluations postérieures. Pour la caractérisation du risque lié à l'ingestion de nitrates dans les légumes, l'AESA en 2008 retient la DJA des nitrates proposée par le JECFA en 2003.

L'Afssa estime néanmoins que les données publiées relatives à l'étude pivot de Lehman A.J. (1958) sont critiquables sur le plan méthodologique pour établir une valeur toxicologique de référence pour les nitrates.

## 6.1.2 - Nitrites

### 6.1.2.1 Historique des évaluations scientifiques nitrites par le JECFA

#### Première évaluation JECFA 1961 / 6<sup>ème</sup> meeting

La première évaluation officielle des risques liés à l'ingestion de nitrates et nitrites a été conduite par le JECFA en 1961. Cette évaluation a été réalisée uniquement au regard de l'utilisation des nitrates et nitrites comme additifs alimentaires.

La DSENO a été dérivée d'une étude de toxicité long terme chez le rat. A partir d'une DSENO estimée inférieure à 100 mg/kg p.c./j pour les nitrites, le JECFA propose une DJA de 0-0,4 mg/kg p.c./j exprimé en nitrite de sodium.

#### Deuxième évaluation du JECFA 1965 / 8<sup>ème</sup> Meeting

Cette instance abaisse la DJA des nitrites à 0-0,2 mg/kg p.c./j. Le JECFA utilise alors un facteur de sécurité inhabituel de 500 car l'effet critique retenu était un effet marginal, et souligne la possible formation endogène de composés N-nitrosés à partir des nitrites sans avoir la possibilité d'établir de DSENO pour ces composés.

#### Troisième évaluation du JECFA 1974 / 17<sup>ème</sup> meeting

Sur la base d'un rapport de l'OMS et d'un rapport du CIRC sur les composés N-nitrosés, le JECFA conclut qu'il n'y a pas de preuve suffisante pour réviser le statut temporaire de la DJA des nitrites.

#### Quatrième évaluation JECFA 1994 / 44<sup>ème</sup> meeting 1994

Cette évaluation a été conduite bénéficiant de nouvelles études toxicologiques et épidémiologiques, tant pour les nitrates que pour les nitrites.

Ces nouvelles données ont permis de montrer que les nitrites, accompagnés ou non des précurseurs des composés N-nitrosés sont génotoxiques *in vitro*, mais les résultats des tests *in vivo* sont négatifs, à l'exception d'un seul. Les résultats des études de cancérogénèse sont également négatifs, à l'exception des tests réalisés à partir de concentrations élevées de nitrites et de CNO.

Au cours de cette réunion, le JECFA a pris note de la formation de composés N-nitrosés à partir de nitrites et de précurseurs des composés N-nitrosés, ingérés en grandes quantités ; toutefois les données quantitatives relatives à la formation de composés N-nitrosés ne sont disponibles que pour ceux de ces composés qui ne sont pas cancérogènes (N-nitrosoproline), et ne permettent pas de réaliser une évaluation quantitative de risques de la formation endogène de composés N-nitrosés à partir de l'ingestion de nitrites tels que consommés.

Aussi, le JECFA a basé son évaluation sur deux études toxicologiques :

- une étude de 90 jours chez le rat et un effet critique lié à l'hypertrophie de la zone glomérulaire de la surrénale qui permet de déterminer une DSENO de 5,4 mg/kg p.c./j (exprimé en N),
- une étude de 2 ans chez le rat et un effet critique sur le cœur et les poumons a permis de déterminer une DSENO de 6,7 mg/kg p.c./j (exprimé en N).

Le JECFA, en appliquant un facteur de sécurité de 100, en déduit une DJA de 0-0,06 mg/kg p.c./j (exprimé en N).

#### Cinquième évaluation JECFA 2003 / 59<sup>ème</sup> meeting

Le JECFA considère que l'hypertrophie de la zone glomérulaire de la glande surrénale n'est pas un effet critique qui reflète une action toxique directe ; en conséquence de quoi, la DSENO de 5,4 mg/kg p.c./j est jugée comme non pertinente. D'autres effets critiques doivent être retenus pour l'évaluation. La DSENO de 6,7 mg/kg p.c./j, précédemment retenue et portant sur des effets sur le cœur et les poumons, est donc utilisée pour en dériver une DJA de 0-0,07 mg/kg p.c./j. Le JECFA conclut également sur la nécessité d'estimer une dose de référence pour les effets aigus des nitrites.

Tableau 6.1.2.1 : Evolution des VTR proposées par le JECFA pour l'ingestion de nitrites

Date	Effet critique retenu	NOAEL mg/kg pc/j (exprimé en NO <sub>2</sub> )	FI	DJA mg/kg p.c./j
1961	Réduction marginale du gain de poids corporel (rats, 2 ans)	100	1000	0-0,4 (exprimé en NaNO <sub>2</sub> )
1965	Réduction marginale du gain de poids corporel (rats, 2 ans)	100	500	0-0,2 (exprimé en NO <sub>2</sub> )
1974	Réduction marginale du gain de poids corporel (rats, 2 ans)	100	500	0-0,2 (exprimé en NO <sub>2</sub> )
1994	Hypertrophie de la glande surrénale (rats, 90 j)	5,4	100	0-0,06 (exprimé en NO <sub>2</sub> )
2003	Effet cœur et poumons (rats, 2 ans)	6,7	100	0-0,07 (exprimé en NO <sub>2</sub> )

### 6.1.2.2 Historique des évaluations scientifiques au niveau européen

#### Scientific Committee on Food de la Commission Européenne

Ce comité a conclu que les études sur du long terme chez l'animal ne montrent pas que les nitrates ou les nitrites sont des cancérrogènes directs et qu'il n'existe pas de preuves quantifiées de la formation endogène de composés N-Nitrosés cancérrogènes suite à une exposition à des niveaux réalistes aux nitrates et à des précurseurs N-nitrosables.

En 1995, le SCF a considéré l'étude chronique conduite pendant 2 ans chez le rat. Une DSEO de 10 mg de nitrite de sodium/kg p.c. (équivalente à 6,7 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/kg p.c.) est établie sur la base de modifications histologiques dans les poumons et le cœur. En 1995, en considérant les données toxicologiques disponibles, le SCF conclut que l'effet toxicologique le plus sensible est l'hypertrophie de la zone glomérulaire de la glande surrénale chez le rat. La DSEO estimée est de 10 mg de nitrite de potassium / kg p.c. (équivalente à 5,4 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> / kg p.c.).

Le SCF considère qu'étant donné ces deux effets cibles, il est possible de dériver une DJA pour les ions nitrites *per se* à partir des données sur les sels de potassium et de sodium. Ainsi en appliquant un facteur de sécurité de 100, le SCF établit une DJA pour les ions nitrites de 0 – 0,06 mg/kg p.c./j.

Le SCF confirme que cette DJA est applicable à toutes les sources d'exposition alimentaire.

L'**AESA** retient la DJA de 0,07 mg/kg p.c./j établie par le JECFA en 2003 pour les nitrites dans son rapport de 2008.

### 6.1.2.3 VTR chronique proposée par l'US EPA

Sur la base des travaux de Bosch (1950) et Walton (1951) retenant pour effet les premières manifestations cliniques de la méthémoglobinémie chez l'enfant de moins de 3 mois, une DSENO a été fixée à 1,6 mg/kg p.c./j (exprimé en N), soit 7 mg/kg p.c./j (exprimé en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Cela correspond à une concentration en nitrates de 44 mg/L avec une ingestion quotidienne d'eau de 0,64 L soit 0,16 L/kg p.c./j. Cette limite est aussi la Dose de Référence sans application d'un facteur d'incertitude supplémentaire puisque l'US EPA considère qu'il s'agit de l'effet toxique « critique » de la population la plus sensible (IRIS, 1991).

Une DMENO est établie à 1,8-3,2 mg/kg p.c./j (exprimé en N). On voit que la marge de sécurité entre DSENO et DMENO est faible.

En retenant un taux de réduction des nitrates en nitrites de 10 % chez l'enfant sous l'effet de bactéries du tractus gastro-intestinal, la DSENO pour les nitrites s'établit à 3,3 mg/L, et la Dose de Référence à 0,16 mg/kg p.c./j.

#### 6.1.2.4 VTR chroniques proposées pour les nitrites

Le tableau 6.1.2.4 récapitule les VTR chroniques proposées par différentes instances.

Tableau 6.1.2.4 : Récapitulatif des études prises en compte pour la construction des VTR

Source	VTR	Valeur	Etude	Population	Effet
AESA (2008)	Idem JECFA (2003)				
JECFA (2003)		0,07 mg/kg p.c./j	Shuval et Gruener, 1972	rat	Effets cœur et poumon
SCF (1995)		0,06 mg/kg p.c./j	Till et al, 1988, 1990	rat	Hypertrophie de la zone glomérulaire de la glande surrénale
IRIS EPA (1991)	RfD référence dose	0,16 mg/kg p.c./j	Bosch (1950) et Walton (1951)	nourrissons	méthémoglobinémie

#### 6.1.3 Composés N-Nitrosés

Pour les composés N nitrosés, plusieurs instances ont proposé des VTR chroniques, le détail de la construction des VTR pour la NDMA est présenté en annexe 5. La NDMA, représentative de la classe des nitrosamines volatiles est la plus étudiée.

Les VTR proposées pour ces composés N-Nitrosés ne sont pas détaillées ici car compte tenu des incertitudes sur la quantification de la nitrosation endogène à partir d'une exposition donnée de nitrate exogène, le groupe de travail n'est pas en mesure de conduire une évaluation quantitative des risques sanitaires qui prenne en compte l'éventuel risque cancérigène génotoxique associé à l'ingestion de nitrates et nitrites.

#### 6.2 Valeurs de référence dans l'eau de boisson

Pour le paramètre nitrate, l'OMS indique que la valeur guide de 50 mg/L est fondée sur des données épidémiologiques mettant en avant des cas de méthémoglobinémie chez le nourrisson. Cette valeur guide est protectrice pour les nourrissons en cas d'exposition aiguë, mais aussi pour l'ensemble de la population. L'OMS met un accent sur le rôle de la contamination microbiologique de l'eau entraînant une infection du tube digestif qui peut augmenter significativement le risque pour les nourrissons. A cette fin, l'OMS propose une mesure de gestion concernant un dépassement sur la valeur limite dans l'eau pour les nitrates avec une concentration comprise entre 50 et 100 mg/L. Ainsi, sous la double condition d'une salubrité microbiologique des eaux d'une part et d'une surveillance médicale accrue de la population sensible exposée d'autre part (en particulier les nourrissons), une eau présentant une concentration en nitrate comprise entre 50 et 100 mg/L pourrait être temporairement distribuée (OMS, 2007).

Pour le paramètre nitrite, l'OMS se base sur les données humaines montrant que les doses de nitrites qui causent une méthémoglobinémie chez les nourrissons sont comprises entre 0,4 et plus de 200 mg/kg p.c.. En considérant la valeur basse des doses (0,4 mg/kg p.c.) l'ingestion de 0,75 litre d'eau par un nourrisson de 5 kg, une valeur guide de 3 mg/L (valeur arrondie) est proposé pour l'eau de boisson.

Ces deux ions peuvent être présents conjointement dans l'eau, ainsi l'OMS recommande que la somme des ratios de la concentration sur la valeur guide de chacun d'entre eux n'excède pas 1 :

$$C_{NO_3} / 50 + C_{NO_2} / 3 < 1$$

Concernant l'exposition chronique à ces deux ions, l'OMS rappelle que le JECFA propose des Doses journalières admissibles (DJA). Elle considère que la DJA proposée pour les nitrates par cette instance n'est pas appropriée pour évaluer les risques sanitaires étant donné les différences de métabolisme entre l'homme et les rongeurs. Elle considère cependant prudent de proposer une valeur guide pour les nitrites associée à une exposition chronique. Elle utilise pour cela la DJA proposée par le JECFA (2003) de 0,07 mg/kg p.c./j, considère un individu de 60 kg ingérant 2 L d'eau par jour et alloue 10% de la DJA à l'eau. La valeur guide provisoire proposée est de 0,2 mg/L. Cette valeur est provisoire étant données les incertitudes concernant la susceptibilité des hommes par rapport à l'animal.

Tableau 6.2-1 : Historique de la construction de valeurs guides pour les nitrates et les nitrites.

Date	Document	Nitrate	Nitrite
1958	International Standards for drinking water	L'ingestion d'eau contenant plus de 50-100 mg NO <sub>3</sub> /L risque de provoquer des méthémoglobinémies chez les nourrissons de moins d'un an	
1963	International Standards	Valeur recommandation 45 mg NO <sub>3</sub> /L	
1971	International Standards	Valeur recommandation 45 mg NO <sub>3</sub> /L + mention d'une possibilité de formation endogène de composés N-nitrosés	
1984	1 <sup>ère</sup> édition Guidelines for drinking water quality	Valeur guide : 10 mg N-Nitrate /L	Les concentrations en N-nitrite doivent être très inférieures à 1 mg /L quand l'eau est bien traitée.
1994	2 <sup>ème</sup> édition Guidelines for drinking water quality	Valeur guide : 50 mg NO <sub>3</sub> /L	Valeur guide provisoire : 3 mg /L
		$C_{NO_3} / 50 + C_{NO_2} / 3 < 1$	
1998	2 <sup>ème</sup> édition Guidelines for drinking water quality addendum	Valeur guide : 50 mg NO <sub>3</sub> /L	Valeur guide : 3 mg /L (méthémoglobinémie du nourrisson) Valeur guide provisoire chronique : 0.2 mg /L
		$C_{NO_3} / 50 + C_{NO_2} / 3 < 1$	
2007	3 <sup>ème</sup> édition Guidelines for drinking water quality	Pas de nouveaux éléments pour revoir la valeur guide de 50 mg/L pour les nitrates. L'OMS met cependant un accent sur le rôle de la contamination microbiologique de l'eau entraînant une infection du tube digestif qui peut augmenter significativement le risque pour les nourrissons.	

Tableau 6.2-2 : Valeurs de référence proposées pour les nitrates par différents organismes

Valeur directive 98/83/CE Annexe IB	Valeur guide OMS 2005	Health Canada	US EPA
50 mg/L	50 mg/L	45 mg/L	45 mg/L

Tableau 6.2-3 : Valeurs de référence proposées pour les nitrites par différents organismes

Valeur directive 98/83/CE Annexe IB	Valeur guide OMS 2005	Health Canada	US EPA
0,5 mg/L	3 mg/L (aiguë) 0,2 mg/L (chronique)	3,2 mg/L	3,3 mg/L

## 7 - Bilan

### 7.1. Méthémoglobinémie du nourrisson et valeur guide pour les nitrates

La valeur guide de 50 mg/L proposée par l'OMS pour l'ion nitrate dérive d'une étude ancienne (Walton, 1951). Dans la mesure où aucun cas de méthémoglobinémie n'a été observé lorsque la concentration en nitrates dans l'eau était inférieur à environ 45 mg/L, l'OMS a repris cette valeur pour établir un niveau d'exposition maximal de 50 mg/L dans l'eau de boisson.

Cependant, comme le souligne la publication de Ward *et al.*, 2005 et faisant suite à un forum récent, le rôle de l'exposition aux nitrates seuls dans l'apparition de méthémoglobinémie ayant été remis en question, une meilleure compréhension des interactions entre les facteurs qui conduisent à la

survenue de la méthémoglobinémie est nécessaire afin d'évaluer l'importance relative de chacun d'entre eux et d'identifier les conditions d'exposition aux nitrates via l'eau de boisson qui entraîneraient des risques de méthémoglobinémie.

Parmi ces facteurs, les données épidémiologiques suggèrent que la méthémoglobinémie est souvent associée à une infection.

## 7.2. Autres effets et valeurs toxicologiques de référence pour les nitrates et les nitrites

### 7.2.1. Nitrates, nitrites et cancer

Les effets cancérigènes potentiels liés aux nitrates dans l'eau potable comme dans l'alimentation sont le résultat d'interactions complexes entre le nitrate exogène et les multiples facteurs impliqués dans la formation endogène de CNO détaillée au point 5.4.

Sur la base des connaissances scientifiques disponibles actuellement, il n'est pas possible de quantifier la formation endogène de composés N-nitrosés à partir des nitrates ingérés ni d'évaluer le risque cancérigène.

### 7.2.2 Valeurs toxicologiques de référence pour les nitrates

La DJA pour les nitrates proposée par le JECFA et le SCF est construite à partir d'études de toxicité chronique chez le rat. Or il est généralement admis que le rat ne constitue pas un modèle adéquat pour l'homme, notamment du fait de l'absence de recirculation entéro-salivaire de nitrates.

En 1961, le JECFA précise que la DJA ne devait pas être appliquée aux enfants de moins de 6 mois sans que cette restriction ne soit reprise ultérieurement. Cependant, cette DJA a été révisée par le JECFA en 1994, sa valeur étant fixée à 3,7 mg/kg p.c./j et ne s'appliquant pas aux nourrissons de moins de trois mois. Le JECFA a reconduit cette DJA en 2003.

En 2008, l'AESA retient cette même DJA dans son évaluation des risques sanitaires relative aux nitrates dans les légumes.

L'OMS, dans ses directives de qualité pour l'eau de boisson considère que la DJA proposée pour les nitrates par le JECFA n'est pas appropriée pour évaluer les risques sanitaires en raison des différences de métabolisme entre l'homme et les rongeurs (OMS, 2007).

Par ailleurs, l'Afssa estime que l'étude pivot de Lehman A.J. (1958) retenue en 2003 par le JECFA est critiquable sur le plan méthodologique, ne permet pas l'établissement d'une valeur toxicologique de référence pour les nitrates et qu'il serait en conséquence souhaitable de disposer d'études toxicologiques dans des modèles animaux pertinents.

### 7.2.3. Valeurs toxicologiques de référence pour les nitrites

L'OMS utilise la DJA de 0,07 mg/kg p.c./j du JECFA (2003) pour construire une valeur guide provisoire associée à une exposition chronique au nitrite de sodium.

L'étude conduite par l'Afssa (Afssa – Paser, 2007a), permet d'estimer les apports cumulés en nitrites pour différents scénarios via l'eau de boisson (Tableau 4.2.3) selon une approche conservatrice. Ces valeurs montrent que pour toutes les estimations réalisées (même l'absence de nitrites dans l'eau), les apports journaliers sont, pour les forts consommateurs adultes et les enfants, supérieurs à la DJA proposée par le JECFA.

## 7.3. Conclusion

En 2008, dans son évaluation des risques sanitaires relative aux nitrates dans les légumes, l'AESA estime différents scénarii d'exposition aux nitrates, reprend la DJA du JECFA (2003) et montre que celle-ci est susceptible d'être dépassée pour les adultes consommant 400 g d'un mélange de légumes avec une exposition journalière pour les sources autres que les légumes estimée à 44 mg/personne/jour dont 20 mg/personne/jour attribuable à l'eau. Les calculs d'exposition aux nitrates sont conservateurs ce qui conduit l'AESA à conclure que l'exposition aux nitrates dans les légumes ne conduirait pas à des risques sanitaires appréciables.

En raison des incertitudes scientifiques sur le rôle des seuls nitrates dans la survenue de la méthémoglobinémie du nourrisson et en l'absence de DJA suffisamment robuste, l'Afssa n'est pas en mesure d'évaluer le risque pour la population, en particulier pour les nourrissons, lors d'un dépassement de la limite de qualité de 50 mg/L pour les nitrates et de ce fait, de proposer une valeur de dérogation.

L'Afssa souligne qu'au regard des estimations, certes conservatrices, sur les apports cumulés en nitrites (alimentation et eau), les apports journaliers sont supérieurs à la DJA du JECFA (2003) pour les enfants d'une part et les adultes forts consommateurs d'autre part. Par conséquent, aucun dépassement de la limite de qualité pour les nitrites ne peut être accepté dans l'eau de boisson.

En l'état actuel des connaissances et des incertitudes liées aux effets cancérigènes probables des nitrates et nitrites notamment sous certaines conditions qui entraînent une nitrosation endogène, il n'est pas possible de quantifier la formation endogène de composés N-nitrosés à partir d'un apport de nitrate exogène et d'évaluer le risque cancérigène.

**Sources bibliographiques :**

- AESA (2008) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on the request from the European Commission to perform a scientific risk assessment on nitrate in vegetables, *The EFSA Journal* (2008), Journal number, 689, 1-79
- AESA (2003) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products, *The EFSA Journal* (2003) 14, 1-34
- Afssa – Paser (2007a) Réponse à la demande d'appui sur la contribution des eaux dans les apports en nitrates et en nitrites ; réf. PASER\_07\_0011 du 03/04/2007
- Afssa – Paser (2007b) Données de consommation d'eau du robinet dans l'enquête INCA1 ; réf. PASER-07-0009 du 19/03/07
- Afssa – Paser (2005). Évaluation des apports en additifs alimentaires dans la population française ; réf. AQR/NBA/2005-096
- Arbuckle TE, Sherman GJ, Corey PN. (1988) Water nitrates and CNS birth defects : a population based case- control study *Arch Environ Health* 43 162-167
- Armilio R, Coulson A.H. (1975) Epidemiology of stomach cancer in Chile – The role of nitrogen fertilizers. *Int. J. Epidemiol.*, 4, 301-309
- ATSDR (Agency for toxic substances and diseases registry) Toxicological Profile Information Sheet, n-Nitrosodimethylamine (décembre 1989) ; <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp141.html>, consulté en avril 2007.
- Avery AA. (1999) Infantile methemoglobinemia : re-examining the role of drinking water nitrates. *Environmental Health Perspectives*, 107 583-586
- Barrett, J.H., Parslow, R.C., McKinney, P.A., Law, G.R. & Forman, D. (1998) Nitrate in drinking water and the incidence of gastric, esophageal, and brain cancer in Yorkshire, England. *Cancer Causes Control*. 9, 153–159.
- Bartolomew B.A., Hill M.J. (1984) The pharmacology of dietary nitrate and the origin of urinary nitrate. *Food chemistry and toxicology*. 22. pp. 789-795
- Bartsch et al., 1988. H. Bartsch, H. Ohshima and B. Pignatelli (1988). Inhibitors of endogenous nitrosation. Mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mut. Research* 202, pp. 307–324.
- Bartsch H., Ohshima H., Pignatelli B., Calmels S. (1989) Human exposure to endogenous N-nitroso compounds: quantitative estimates in subjects at high risk for cancer of the oral cavity, oesophagus, stomach and urinary bladder. *Cancer Surveys*. 8: 335-362.
- Bartsch H, Spiegelhalter B. (1996) Environmental exposure to N-nitroso compounds (NNOC) and precursors: an overview. *Eur J Cancer Prev*. 5 (suppl 1): 11 – 17.
- Bosch, H.M., A.B. Rosefield, R. Huston, H.R. Shipman and F.L. Woodward. (1950) Methemoglobinemia and Minnesota well supplies. *J. Am. Water Works Assoc.* 42: 161-170.
- Bednar C, Kies C. (1994) Nitrate and vitamin C from fruits and vegetables: impact of intake variations on nitrate and nitrite excretions of humans. *Plant Foods Hum Nutr* ; 45: 71-80.
- Beresford S.A. (1985). Is nitrate in the drinking water associated with the risk of cancer in the urban UK ? *Int. J. Epidemiol.* 14, 57-63
- Biaudet H., Mavelle T., Debry G. (1994) Mean daily intake of n-nitrosodimethylamine from foods and beverages in France in 1987-1992, *Food Chemical Toxicology*, Vol. 32 (5), p. 417-421
- Boeing H., Frentzel-Beyme R., Berger M., Berndt V., Göres W., Kömer M., Lohmeier R., Menarcher A. Männi H.F., Meinhardt M & al. (1991). Case-control study of stomach cancer in Germany. *Int. J. Cancer*, 47 (6), 858-864
- Bogovski P., Bogovski S. (1981) Animal Species in which N-nitroso compounds induce cancer. *Int J Cancer* ; 27(4):471-4
- Bove FJ, Fulcomer MC, Klotz JB. (1992) Public Drinking Water Contamination and Birth Weight, Fetal Deaths, and Birth Defects. A Crosssectional Study. Report on Phase IV-A. Trenton, NJ:New Jersey Department of Health.
- Brantom, P.G. (1983) Dose-response relationships in nitrosamine carcinogenesis. Ph.D. thesis, University of Surrey, Guildford, U.K. British Industrial Biological Research Association (BIBRA), Carshalton, Surrey, U.K. 158 pp.
- Cantor K. P. (1997) Drinking water and cancer. *Cancer Causes Control*. 8(3). 292-308
- Challis, B.C. (1981) The chemistry, and formation of N-nitroso compounds. In: Gibson, G.G. & Ioannides, C. (eds): *Safety Evaluation of nitrosatable Drugs and Chemicals*. Taylor & Francis Lts., London. 16-55.
- Cheng R., Hwang C., Andrews-Tate C., Guo Y., Suffet I.H. (2006) Alternative methods for the analysis of NDMA and other nitrosamines in water. *Journal AWWA*. 98:82-96.
- Chilvers C; Inskip H; Caygill C; Bartholomew B; Fraser P; Hill M. (1984) A survey of dietary nitrate in well-water users. *International journal of epidemiology*. Vol. 13, No. 3, pp. 324-31.
- Chow C-W. Kapas A, Ronianek R, Grinstein S. (1997) NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-induced pH changes in mammalian cells. Evidence for an NO<sub>3</sub><sup>-</sup> H<sup>+</sup> cotransporter. *J Gen Physiol* ; 110: 185-200.
- Centre International de Recherche sur le Cancer CIRC (2006) Ingested Nitrates and Nitrites, and Cyanobacterial Peptide Toxins, Vol. 94



- Cocco, P., G. Broccia, et al. (2003) Nitrate in community water supplies and incidence of non-Hodgkin's lymphoma in Sardinia, Italy. *J Epidemiol Community Health*. 57(7): 510-1.
- Cohen, B. & Myant, M.B. (1959) Concentration of salivary iodide: a comparative study. *Journal of Physiology*. 145: 595-610.
- Comly HH (1945) Cyanosis in infants caused by nitrates in well water *J Am Med Assoc* 129, 112-116.
- Coss, A., K. P. Cantor, et al. (2004) Pancreatic cancer and drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite. *Am J Epidemiol*. 159(7): 693-701.
- Cuello C. et al. (1976) Gastric cancer in Colombia. I. Cancer risk and suspect environmental agents. *J Natl Cancer Inst* 57, 1015-20
- De Roos, A. J., M. H. Ward, et al. (2003) Nitrate in public water supplies and the risk of colon and rectum cancers. *Epidemiology*. 14(6): 640-9.
- DHS (2003). Studies on the Occurrence of NDMA in Drinking Water. California Department of Health Services, Sacramento, CA. Accessed at: <http://www.dhs.ca.gov/ps/ddwem/chemicals/NDMA/studies.htm>.
- Dietrich, D. (2005) A review : dietary intake and endogenously formed N-nitroso compounds and risk of childhood brain tumors. *Cancer causes and control*. 16:619-635
- Egberts J, Soederhuizen W. (1996) Urine samples before dinner are preferable when studying changes in endogenous nitrate production under uncontrolled dietary conditions. *Clin Chim Acta* ; 254: 141-8.
- Eichholzer M, Gutzwiller F. (1998) Dietary nitrates, nitrites and N Nitroso compounds and cancer risk : a review of the epidemiologic evidence *Nutrition Reviews* 56, 4, 95-105
- Ellis G, Adatia I, Yazdanpanah M, Makela S. (1998) Nitrite and nitrate analyses : a clinical biochemistry perspective *Clin Biochem* , 31 : 195-220
- Environment Canada, Health Canada. (2000) Priority substances list assessment report: N-Nitrosodimethylamine (NDMA). Ottawa. Ministry of Public Works and Government Services. September. Available at : [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl2-lsp2/index\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl2-lsp2/index_e.html)
- European Commission (EC) (1997) Report on tasks for scientific cooperation – Assessment of dietary intake of nitrates by the population in the European Union, as a consequence of the consumption of vegetables
- Fan AM, Steinberg VE (1996) Health implications of nitrate and nitrite in drinking water: an update on methemoglobinemia occurrence and reproductive and developmental toxicity *Regul Toxicol Pharmacol* 23 35-43
- Fan Am, Willhite CC, Books SA (1987) Evaluation of the nitrate drinking water standart with reference to infant methemoglobinemia and potential reproductive toxicity *Regul Toxicol Pharmacol* 7 : 135-148
- Fewtrell, L. (2004) Drinking-water nitrate, methemoglobinemia, and global burden of disease: a discussion. *Environ Health Perspect*. 112(14): 1371-4.
- Freedman, D. M., K. P. Cantor, et al. (2000) A case-control study of nitrate in drinking water and non-Hodgkin's lymphoma in Minnesota. *Arch Environ Health*. 55(5): 326-9.
- Fritsch, P., Saint-Blanquat, G. (1985) La pollution par les nitrates. *La Recherche*. n° 169, pp. 1106-1115.
- Gangolli S.D., Van Den Brandt P.A., Feron V.J., Janzowsky C., Koeman J.H., Speijers G.J.A., Spiegelhalder B., Walker R., Wishnok J.S. (1994) Assessment; nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *Eur. J. Pharmacol. Env. Toxicol. and Pharmacol. Section* 292: 1-38.
- Gebara B, Goetting MM (1994) Life-threatening methemoglobinemia in infants with diarrhea and acidosis. *Clin Pediatr.* , 33: 370-373
- Gelperin A., Moses V.J., Fox G. (1976) Nitrate in water supplies and cancer. *Illinois Med. J*. 149, 251-253
- Gilli G., Corrao G., Favilli S. (1984) Concentrations of nitrates in drinking water and incidence of gastric carcinomas : first descriptive study of the Piemonte region, Italy. *Sci. Total Environ*. 34, 35-48
- Gloria MBA, Våle SR, Vargas OL, Barbour JF, Scanlan RA. (1997) Influence of nitrate levels added to cheesemilk on nitrate, nitrite, and volatile nitrosamine contents in gruyere cheese. *J Agricult Food Chem* ; 45: 3577-9.
- Green LC, Ruiz de Luzuriaga K, Wagner D, et al. (1981) Nitrate biosynthesis in man. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 78:7764-8.
- Groenen PJ, Luten JB, Dhont JH, De Cock-Bethbeder MW, Prins LA and Vreeken JW (1982). Formation of volatile N-nitrosamines from food products, especially fish, under simulated gastric conditions. *IARC Sci. Publ*. 41 : 99–112.
- Gulis, G., M. Czompolyova, et al. (2002) An ecologic study of nitrate in municipal drinking water and cancer incidence in Trnava District, Slovakia. *Environ Res*. 88(3): 182-7.
- Gupta SK, Fitzgerald JF, Chong SK, Croffie JM, Garcia JG (1998) Expression of inducible nitric oxide synthase m RNA in inflamed oesophageal and colonic mucosa in a pediatric population *Am J Gastroenterol*. 93: 795-798
- Han, C. Z., Guo, Y. & Jing, J. X. (1995). A study on the relationship between malignant tumour mortality and environmental pollution in Beicun countryside of Datong City. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 16, 101-4.

- Hanukoglu A, Danon PN. (1996) Endogenous methemoglobinemia associated with diarrheal disease in infancy *J Pediatr Gastroenterol.* 23 : 1-7
- Hecht SS. (1997) Approaches to cancer prevention based on an understanding of N nitrosamine carcinogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med ;* 216: 181-91.
- Hegesh E, Siloah J (1982) Blood nitrates and infantile methemoglobinemia *Clin Chim Acta.* 125 : 105-107
- Hill MJ. (1996) Endogenous N-nitrosation. *Eur J Cancer Prev ;* 5: 47-50.
- Hill, M. J., Hawksworth, G. & Tattersall, G. (1973). Bacteria, nitrosamines and cancer of the stomach. *Br J Cancer* 28, 562-7
- Hunt J, Turner MK. (1994) A survey of nitrite concentrations in retail fresh vegetables. *Food Addit Contam ;* 11: 327-32.
- IRIS : Integrated Risk Information System – US Environmental protection agency : Nitrate (dernière mise à jour : 10/01/1991), <http://www.epa.gov/iris>
- IRIS : Integrated Risk Information System – US Environmental protection agency : n-Nitrosodimethylamine (dernière mise à jour : 07/01/1993), <http://www.epa.gov/iris>
- Jakszyn P., Agudo A., Berenguer A., Ibanez R., Amiano P., Pera G., Ardanaz E., Barricarte A., Chirlaque MD, Dorronsoro M., Larranaga N. (2006) Intake and food sources of nitrites and N-nitrosodimethylamine in Spain. *Public Health Nutr.* 9:785-791
- JECFA (2003) Safety evaluation of certain food additives - WHO food additives series : 50.
- JECFA (1995) Evaluation of certain food additives, WHO technical report series 859 pp. 29-35
- JECFA (2002) Evaluation of certain food additives, WHO technical report series 913
- Jensen, O. M. (1982). Nitrate in drinking water and cancer in northern Jutland, Denmark, with special reference to stomach cancer. *Ecotoxicol Environ Saf* 6, 258-67.
- Jolly BT, Monico EP, Mc Devitt B (1995) Methemoglobinemia in an infant : cas report and review of the literature *Pediatr Emerg Care.* 11 294-297
- Juhász, L, Hill, M.J. & Nagy, G. (1980). Possible relationship between nitrate in drinking water and incidence of stomach cancer I.A.R.C. *Sci. Publ.* 31, 619-623
- Jungersten L, Edlund A, Petersson AS, Wennmalm A. (1996) Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in man: analyses of kinetic and confounding factors. *Clin Physiol ;* 16: 369-79.
- Jungersten L, Edlund A, Petersson AS, Wennmalm A. (1993) Plasma nitrate as an index of endogenous nitric oxide formation in man. Analysis of kinetic, confounding factors, and response to immunological challenge. *Circulation ;* 88: 1-369.
- Kapoor A, Viraraghavan T. (1997) Nitrate removal from drinking water: review. *J Environ Eng Assoc ;* 123:371-80
- Knox E.G. (1972) Anencephalus and dietary intakes. *Br J Prev Soc Med,* 26:219-223
- Kone BC. (1997) Nitric oxide in renal health and disease. *Am J Kidney Dis. ;* 30: 311-33.
- Kostka P. (1995) Free radicals (nitric oxide). *Anal Chem. ;* 67: 411R-6R.
- Kross BC, Hallberg GR, Bruner DR, Cherryholmes K, Johnson JK. (1993) The nitrate contamination of private well water in Iowa. *Am J Public Health ;* 83(2):270-272.
- Krul, C. A., M. J. Zeilmaier, et al. (2004) Intragastric formation and modulation of N-nitrosodimethylamine in a dynamic in vitro gastrointestinal model under human physiological conditions. *Food Chem Toxicol.* 42(1): 51-63.
- Laitinen S, Virtanen SM, Rasanen L, Penttila PL. (1993) Calculated dietary intakes of nitrate and nitrite by young Finns. *Food Addit Contam ;* 10: 469-77.
- Law, G., Parslow, R., McKinney, P. & Cartwright, R. (1999). Non-Hodgkin's lymphoma and nitrate in drinking water: a study in Yorkshire, United Kingdom. *J. Epidemiol. Community Health* 53, 383-4.
- Lebby T, RocoJJ, Arcinue EL. (1993) Infantile methemoglobinemia associated with acute diarrheal illness *Am J Emerg Med.* 11: 471-472
- Leclerc, H., Vincent, P & Vandevenne. (1991). Nitrates dans l'eau de boisson et cancer – Discussion. *P. Bull. Acad.Natl Med.,* 175, 651-666
- Lehman, A.J. (1958). Quarterly report to the editor on topics of current interest. Nitrates and nitrites in meat products. *Quarterly Bulletin of the association of Food and Drug officers,* 22 136-138
- Levine JJ, Petti MJ, Valderrama E, Gold DM, Kessler BH, Trachtman H. (1998) Nitric oxide and inflammatory bowel disease : evidence for local intestinal production in children with active colonic diseases *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 26, 1, 34-38
- Licht, W. R., S. R. Tannenbaum, and W. M. Deen. (1988) Use of ascorbic acid to inhibit nitrosation: kinetic and mass transfer considerations for an in vitro system. *Carcinogenesis.* 9:365-372
- Lijinsky, W. (1987) Structure-activity relations in carcinogenesis by N-nitroso compounds. *Cancer Metastasis Rev* 6, 301-56.

- Lijinsky, W. (1990) Occupational and environmental exposures to N-nitroso compounds. *Advances in Modern Env. Toxicol.* 17, 189-207.
- Lijinsky, W. (1992) *Chemistry and Biology of N-nitroso compounds*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 453
- Lijinsky, W. (1999) N-Nitroso compounds in the diet. *Mutat Res* 443, 129-38 (1999).
- Lu SH., Ohshima H., Fu HM., Tian Y., Li FM., Blettner M., Wahrendorf J., Bartsch H. (1986). Urinary excretion of N-nitrosoamino acids and nitrate by inhabitants of high- and low-risk areas for oesophageal cancer in Northern China: endogenous formation of nitrosoproline and inhibition by vitamin C. *Cancer Res.*, 46:1485-1491.
- Luca, D., Luca, V., Cotor, F. et Rileanu, L. (1987) In vivo and in vitro cytogenetic damage induced by sodium nitrite. *Mutat. Res.*, 189: 333
- Lukens JN. (1987) The legacy of well-water methemoglobinemia *JAMA*. 257 2793-2795
- Lutz WK (1999) Carcinogens in the diet vs. overnutrition. Individual dietary habits, malnutrition, and genetic susceptibility modify carcinogenic potency and cancer risk. *Mut. Res.* 443: 251-258.
- Manassaram, D.M., Backer, L.C., Moll, D.M. (2006) A review of nitrates in drinking water: Maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes. *Environmental Health Perspectives*, 114 (3), pp. 320-327.
- Markel E, Nyakas C, Omas S. (1989) Nitrate induced changes in sensoro-motor development and learning behaviour in rats. *Acta Physiol Hung* ;74(1):69-75.
- McKnight GM, Smith LM, Drummon RS, Duncan CW, Golden M, Benjamin N. (1997) Chemical synthesis of nitric oxide in the stomach from dietary nitrate in humans. *Gut* ; 40: 211-4.
- Meah MN, Harrison N, Davies A. (1994) Nitrate and nitrite in foods and the diet. *Food Addit Contatii* ; 11: 519-32.
- Meharg A-A, Blatt MR. (1995) NO<sub>3</sub>-transport across the plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* root hairs: kinetic control by pH and membrane voltage. *Membr Biol.* ; 145: 49-66.
- Ministère chargé de la Santé (1991) La diagonale des nitrates. 21 p.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (1997). 1994 Total Diet Study - Nitrate and Nitrite. Food Surveillance Information Sheet No. 137.
- MAFF UK - Nitrate in Vegetables. (September 1998)
- Mirvish S.S., Grandjean A.C., Moller H., Fike S., Maynard T., Jones L., Rosinsky S., Nie G. (1992) N-nitrosoproline excretion by rural Nebraskans drinking water of varied nitrate content. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 1: 455-461.
- Mirvish, S. (1995) Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. *Cancer Letters* 93 : 17-48
- Mitch WA, Sedlak DL (2004). Characterization and Fate of N-Nitrosodimethylamine Precursors in Municipal Wastewater Treatment Plants. *Environ Sci Technol* 38:1445-1454.
- Moller H., Landt J., Pedersen E., Jensen P., Autrup H., Jensen O.M. (1989) Endogenous nitrosation in relation to nitrate exposure from drinking water and diet in a Danish rural population. *Cancer Research*. 49: 3117-3121.
- Moller, H. (1997). Work in agriculture, childhood residence, nitrate exposure, and testicular cancer risk: a case-control study in Denmark. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6, 141-4.
- Morales Suarez-Varela, M., Llopis Gonzalez, A., Tejerizo Perez, M. L. & Ferrandiz Ferragud, J. (1993). Concentration of nitrates in drinking water and its relationship with bladder cancer. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 12, 229-36.
- Morales-Suarez-Varela (M.M.), Llopis-Gonzalez (A.), Tejerizo-Perez (M.L.) (1995) Impact of nitrates in drinking water on cancer mortality in Valencia, Spain. *European Journal of Epidemiology*. 11, 115-21
- Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PL. (1995) Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clin Chem* ; 41: 892-6.
- Moshage H. (1997) Nitric oxide determinations: much ado about NO'-thing. *Clin Chem* ; 43: 5,53-6.
- Mueller, B. (2001) Residential Water Source and the Risk of Childhood Brain Tumor. *Environmental Health Perspectives*. 109(6) p551, p6.
- Mueller, B. A. et al. (2004). Household water source and the risk of childhood brain tumours: results of the SEARCH International Brain Tumor Study. *Int J Epidemiol* 33, 1209-16.
- NAS. Estimation of risk to human health, In *The health effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds*. National Academy Press. Washington. p. 10.1-10.40
- Nousbaum, J.-B. (1989). Nitrates et cancer gastrique. Etude dans le département du Finistère. Thèse Med., Brest
- NTP National Toxicology Program (1990) Reproductive Toxicity of Sodium Nitrite (CAS No. 7632-00-0) in CD-1 Swiss Mice Report # RACB88071

- OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment). California Environmental Protection Agency.- Public Health Goal for n-Nitrosodimethylamine in Drinking Water, December 2006. <http://www.oehha.ca.gov/water/phg/allphgs.html> (dernière consultation : avril 2007)
- Omata T. (1995) Structure, fonction and regulation of the nitrate transport system of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC7942. *Plant Cell Physiol.* ; 36: 207-13
- Organisation mondiale de la santé - OMS (2003). Guidelines for drinking water quality - third edition - draft. World Health Organization p.
- Organisation mondiale de la santé - OMS (2007). Nitrate and nitrite in drinking-water - Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality - third edition. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/en/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/en/index.html)
- Ohshima H., Bartsh H. (1981) Quantitative estimation of endogenous nitrosation in humans by monitoring N-nitrosoproline excreted in the urine. *Cancer Res.* 41: 3658-3662.
- Pannala A.S., Mani A.R., Spencer J.P.E., Vernon-Skinner K., Bruckdorfer R., Moore K.P., Rice-Evans C. (2003) The effect of dietary nitrate on salivary, plasma and urinary nitrate metabolism in humans. *Free Rad. Res. Med.* 34. pp. 576-584
- Peto, R., R. Gray, P. Brantom and P. Grasso. (1984) Nitrosamine carcinogenesis in 5120 rodents: Chronic administration of sixteen different concentrations of NDEA, NDMA, NPYR and NPIP in the water of 4440 inbred rats, with parallel studies on NDEA alone of the effect of age of starting (3, 6 or 20 weeks) and of species (rats, mice, hamsters). *IARC Sci. Publ.* 57: 627-665.
- Peto, R., R. Gray, P. Brantom and P. Grasso. (1991a). Effects on 4080 rats of chronic ingestion of N-nitrosodiethylamine or N-nitrosodimethylamine: a detailed dose-response study. *Cancer Res.* 51: 6415-6451.
- Pignatelli, Brigitte. Risque de cancérogénicité des nitrates à long terme ? Eléments d'évaluation. Assises internationales Environbio - Gestion des risques santé environnement : le cas des nitrates. Paris. 13-14 novembre 2000
- Pignatelli, Brigitte. (2002) Nitrosamines et autres composés N-nitrosés dans les aliments. Tec&Doc. Sécurité alimentaire du consommateur. Paris. 257-288. 2e édition
- Pignatelli, B; Descotes, G; Bartsch, H. (1985) Composés N-nitrosés : formation et effets biologiques. *L'actualité chimique.* Pages: 33-40
- Rademacher, J.-J., Young, T.B. & Kanarek, M.S. (1992). Gastric cancer mortality and Nitrate levels in Wisconsin drinking water. *Arch. Environ. Health,* 47, 292-294.
- Rassaf T., Feelisch M., Kelm M. (2004) Circulation NO pool : assessment of nitrite and nitroso species in blood and tissues. *Free Radical. Biol. Med.* 36. pp. 413-442
- Roediger WEW., Radcliffe BC. (1988) Role of nitrite and nitrate as a redox couple in the rat colon, implication for diarrheal conditions *Gastroenterology.* 94 915-922
- Roth AC, Herkert GE, Bercz JP, Smith MK. (1987) Evaluation of the developmental toxicity of sodium nitrite in Long Evans rats *Fundam Appl Toxicol.* 9 668-677
- Sandor, J., Kiss, I. & Ember, I. (1998) Threshold for gastric cancer causing effect of nitrate in drinking water. *Anticancer Res.* 18, 4940.
- Sandor, J., Kiss, I., Farkas, O. & Ember, I. (2001). Association between gastric cancer mortality and nitrate content of drinking water: ecological study on small area inequalities. *Eur J Epidemiol* 17, 443-7.
- Santillana MI, Ruiz E, Nieto MT, de Alba M. (1993) High performance ion chromatography détermination of nitrite and nitrate in food stuffs. *J Liq Chromatogr* ; 16: 1561-71.
- Sanz Anquela J.M.; Muñoz Gonzalez, M.L.; Ruiz Liso, J.M.; Rodriguez Manzanilla, L.; Alfaro Torres, J., (1989). Correlacion del riesgo de cancer gastrico en la provincia de Soria con el contenido de nitratos en las aguas de bebida ; *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.* 75.6 (561-565).
- Sen et al., 1985. N.P. Sen, L. Tessier, S.W. Seaman and P.A. Baddoo (1985). Volatile and non-volatile nitrosamines in fish and the effect of deliberate nitrosation under simulated gastric conditions. *J. Agric. Food Chem.* 33, pp. 264–268.
- Shapiro K.B., Hotchkiss J.H., Roe D.A. (1991) Quantitative relationship between oral nitrate-reducing activity and the endogenous formation of N-nitrosoamino acids in humans. *Food Chem. Toxic.* 29: 751-755.
- Schuddeboom LJ (1993) Nitrates and nitrites in foodstuffs, ed by the European Commission, Council of Europe Press. Brussels. p 125
- Schuddeboom, L.J. (1994). A survey of the exposure to nitrate and nitrite in foods (including drinking water). International workshop - health aspects of nitrates and its metabolites (particularly nitrite). Bilthoven (Netherlands). 8-10 November 1994.
- Scientific Committee for Food – SCF. (1995) Opinions of the scientific committee for food on : Nitrates and Nitrite - Reports of the SCF (thirty eighth series).
- Sierra R., Chinnock A., Ohshima H., Pignatelli B., Malaveille C., Gamboa C., Teuchmann S., Munoz N., Bartsch H (1993). In vivo nitrosoproline formation and other risk factors in Costa Rica children from high- and low-risk areas for gastric cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2. 563-568.
- Sobko, T., C. I. Reinders, et al. (2005) Gastrointestinal bacteria generate nitric oxide from nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 13(4): 272-8.

- Speijers, G.J.A., Van Went, G.F., Van Apeldoorn, M.E., Montizaan, G.K., Janus, J.A., Canton, J.H., Van Gestel, C.A.M., Van der Heijden, C.A., Heijna-Merkus, E., Knaap, A.G.A.C., Luttik, R. et De Zwart, D. (1989) Integrated criteria document nitrate. Appendix to Report No. 758473012, National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), Bilthoven, Pays-Bas
- Speijers G.A., Van den Brandt P.A. WHO FOOD ADDITIVES series : 50 NITRITE
- Spiegelhalter, B. (1994) Influence of dietary nitrate on oral nitrite production : relevance to in vivo formation of nitrosamines. Conference Name: International workshop : Health aspects of nitrates and its metabolites (particularly nitrite). Council of Europe. pp. 125-136
- Spiegelhalter B., Eisenbrand G., Preussmann R. (1976) Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva : possible relevance to in vivo formation of N-nitroso compounds. Food and cosmetics toxicology. 14. pp. 545-548
- Steindorf K. et al. (1994) Nitrate in drinking water. A case control study on primary brain tumours with an embedded drinking water survey in Germany. Int. J. Epidemiol. 23(3). 451-457
- Stillwell WG., Glogowski J., Xu HX, Wishnok JS, Zavala D., Montes G. Correa P., Tannenbaum SR. (1991) Urinary excretion of nitrate, N-nitrosoproline, 3-methyladenine and 7-methylguanine in a Colombian population at high risk for stomach cancer. Cancer Res., 51, 190-194
- Super M., De V., Hesse H., Mac Kenzie D., Dempster W.S., Duplessix J., Ferreirin J.J. (1981) An epidemiological study of well-water nitrates in a group of South West African/namibian infants Water Res, 15: 1265-1270
- Suto T, Losonczy G, Qiu C, et al. (1995) Acute changes in urinary excretion of nitrite + nitrate do not necessarily predict renal vascular NO production. Kidney Int ; 48: 1272-7.
- Tanaka S, Yashiro A, Nakashima Y, Nanri H, Ikeda M, Kuroiwa A. (1997) Plasma nitrite/nitrate level is inversely correlated with plasma low-density lipoprotein cholesterol level. Clin Cardiol ; 20: 361-5.
- Tannenbaum S.R., Fett D., Young V.R., Land P.D., Bruce W.R. (1978) Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestine. Science. 200. pp. 1487-1489
- Thouez J-P, Beauchamp Y, Simard A. (1981) Cancer and the physicochemical quality of drinking water in Quebec. Soc Sci Med. ; 15D:213-223.
- Til H.P., Falke H.E., Kuper C.F. (1990) Supplementary subchronic (90-day) toxicity. TNO report. V90.21, Zeist.
- Till H.P., Kuper C.F. (in press). Subchronic toxicity experiments with potassium nitrite in rats. Journal of Council of Europe, Strasbourg.
- Tricker AR, Preussmann R. (1991) Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. Mutat Res. 259:277-89.
- Vallance P. (1997) Dietary nitrate: poison or panacea. Gut 1997; 40:288.
- Van Grinsven, H. J., M. H. Ward, et al. (2006) Does the evidence about health risks associated with nitrate ingestion warrant an increase of the nitrate standard for drinking water ? Environ Health. 5: 26.
- Van Leeuwen, J. A., Waltner-Toews, D., Abernathy, T., Smit, B. & Shoukri, M. (1999). Associations between stomach cancer incidence and drinking water contamination with atrazine and nitrate in Ontario (Canada) agroecosystems, 1987-1991. Int J Epidemiol 28, 836-40.
- Van Loon A, Botterweck AAM, Goldbohm RA, Brants HA, van Klaveren JD, van den Brandt PA. (1998) Intake of nitrate and nitrite and the risk of gastric cancer: a prospective cohort study. Br J Cancer. 78:129-135.
- Van Loon, A.J.M., Botterweck, A.A.M., Goldbohm, R.A., Brants, H.A.M. & van den Brandt, P.A. (1997) Nitrate intake and gastric risk: results from Netherlands cohort study Cancer Letters 114, 259-261
- Van Maanen, JM, van Geel AA, Kleinjans JC (1996) Modulation of nitrate-nitrite conversion in the oral cavity. Cancer Detec Prev. 20: 590-6.
- Van Vliet JJ, Vaessen HA, van den Burg G, Schothorst RC. (1997) Twenty-four-hour duplicate diet study 1994; nitrate and nitrite: method development and intake per person per day. Cancer Lett. ; 114: 305-7.
- Vermeer I. T., Pachen D. M., Dallinga J.W., Kleinjans J. C., Van Maanen J. M. (1998) Volatile N-nitrosamine formation after intake of nitrate at the ADI level in combination with an amine-rich diet. Environ Health Perspect, 106(8), 459-463
- Viinikka L. (1996) Nitric oxide as a challenge for the clinical chemistry laboratory. Scand J Clin Lab Invest ; 56: 577-81
- Vincent, P., Dubois, G. & Leclerc, H. (1983). Nitrates in the drinking water and cancer mortality. An epidemiologic study in northern France. Rev Epidemiol Sante Publique 31, 199-207.
- Volkmer BG, Ernst B, Simon J, Kuefer R, Bartsch G Jr, Bach D, Gschwend JE. (2005) Influence of nitrate levels in drinking water on urological malignancies: a community-based cohort study. BJU Int. 95(7):972-6.
- Wagner D A, Moldawer L L, Pomposelli J J, Tannenbaum S R, and Young V R. (1985) Nitrate biosynthesis in the rat. Precursor-product relationships with respect to ammonia. Biochem J. December 1; 232(2): 547-551.
- Walker R. (1990) Nitrates, nitrites and N-nitrosocompounds : a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. Food Addit Contam 7 : 717-768
- Walker R. (1996) The metabolism of dietary nitrites and nitrates. Biochem Soc Trans ; 24: 780-5.

- Walters C.L., Carr F.P., Dyke C.S., Saxby M.J., Smith P.L., Walker R. (1979) Nitrite sources and nitrosamine formation in vitro and in vivo. *Food Cosmet. Toxicol.*, 17: 473-479.
- Walton G. (1951) Survey of literature relating to infant methemoglobinemia due to nitrate contaminated water *Am J Public Health* 41, 986-996.
- Ward, M. H., K. P. Cantor, et al. (2003) Nitrate in public water supplies and risk of bladder cancer. *Epidemiology*. 14(2): 183-90.
- Ward, M. H., J. R. Cerhan, et al. (2006) Risk of non-Hodgkin lymphoma and nitrate and nitrite from drinking water and diet. *Epidemiology*. 17(4): 375-82
- Ward, M. H., T. M. deKok, et al. (2005) Workgroup report: Drinking-water nitrate and health—recent findings and research needs. *Environ Health Perspect*. 113(11): 1607-14.
- Ward, M. H., S. D. Mark, et al. (2000) Non-Hodgkin's lymphoma and nitrate in drinking water. *J. Epidemiol Community Health*. 54(10): 772-3.
- Ward, M. H., S. D. Mark, et al. (1996) Drinking water nitrate and the risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Epidemiology*. 7(5): 465-71.
- Weisenburger, D.D. (1991). Potential health consequences of ground-water contamination by nitrates in Nebraska. In Bogardi, I., Kuzelka, R.D., eds. *Nitrate Contamination*. Berlin, Germany:Springler-Verlag, 309-315
- Weller R, Pattullo S, Smith L, Golden M, Ormerod A, Benjamin N. (1996) Nitric oxide is generated on the skin surface by reduction of sweat nitrate. *J Invest Dermatol.* ; 107: 327-31.
- Wennmalm A, Benthin G, Edlund A, et al. (1993) Metabolism and excretion of nitric oxide in humans: an experimental and clinical study. *Circ Res.* ; 73:1121–1127.
- Weyer, P. J., J. R. Cerhan, et al. (2001) Municipal drinking water nitrate level and cancer risk in older women: the Iowa Women's Health Study. *Epidemiology*. 12(3): 327-38.
- Xu, G., Song, P. & Reed, P. I. (1992). The relationship between gastric mucosal changes and nitrate intake via drinking water in a high-risk population for gastric cancer in Moping county, China. *Eur J Cancer Prev* 1, 437-43.
- Yang, C.Y., Wu, D.C. & Chang, C.C. (2007). Nitrate in drinking water and risk of death from colon cancer in Taiwan. *Environ. Int.*, 33 (5), 649-653
- Yang, C. Y., Cheng, M. F., Tsai, S. S. & Hsieh, Y. L. (1998). Calcium, magnesium, and nitrate in drinking water and gastric cancer mortality. *Jpn J Cancer Res* 89, 124-30.
- Zaldivar, R. & Wetterstrand, W. H. (1978). Nitrate nitrogen levels in drinking water of urban areas with high- and low-risk populations for stomach cancer: an environmental epidemiology study. *Z Krebsforsch Klin Onkol Cancer Res Clin Oncol* 92, 227-34.
- Zatonski W., Ohshima H., Prewozniak K., Drosik K., Mierzwinska J., Krygier M., Chmielarczyk W., Bartsch H. (1989). Urinary excretion of N-nitrosoaminoacids and nitrate by inhabitants of high- and low-risk areas for stomach cancer in Poland. *Int. J. Cancer*, 44, 823-827
- Zeballos GA, Bernstein RD, Thompson CI, et al. (1995) Pharmacodynamics of plasma nitrate/nitrite as an indication of nitric oxide formation in conscious dogs. *Circulation* ; 91: 2982-8
- Zeman CL., Kross B. and Vlad M. (2002) A nested case-control study of methemoglobinemia risk factors in children of Transylvania, Romania. *Environ Health Perspect*, 110, 817-822
- Zeng Y., Ohshima H., Bouvier G., Roy P., Jianming Z., Li B., Brouet I., De Thé G., Bartsch H. (1993). Urinary excretion of nitrosoamino acids and nitrate by inhabitants of high- and low-risk areas for nasopharyngeal carcinoma in southern China. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2, 195-200

## Annexe 1 – Fiche 19 : Présentation de la méthodologie pour l'estimation des apports alimentaires en nitrites et nitrates

L'étude concernant l'estimation des apports en nitrates et en nitrites, combine les données de consommations alimentaires individuelles de l'enquête INCA1 et les données de concentration issues des plans de surveillance et de contrôle de la DGCCRF (2000-2006). Pour les nitrates dans l'eau du robinet, une extraction de la base SISE-Eaux (DGS, 2005) a également été réalisée.

### 1- Les données de consommation des adultes et des enfants âgés de plus de 3 ans

Les données sont issues de l'enquête nationale de consommation individuelle INCA. Cette enquête a été réalisée sur le territoire français d'août 1998 à juin 1999 – intégrant ainsi les effets saisonniers – auprès de 3003 individus, enfants et adultes, représentatifs de la population française. La représentativité nationale a été assurée par stratification (âge, sexe, PCS individuelle et taille du ménage). Les calculs ne portent que sur les individus « normo-évaluants » soit 1474 adultes âgés de plus de 15 ans et 1018 enfants âgés de 3 à 14 ans. Cette enquête a permis le recueil de toutes les prises alimentaires des individus pendant une semaine entière à partir de carnets de consommation<sup>14</sup>.

### 2- Données des plans de surveillance de la DGCCRF

#### Description des données

Les données des plans de surveillance de la DGCCRF utilisées dans cette étude, concernent les résultats des plans annuels mis en œuvre sur les denrées susceptibles de contenir des nitrates et des nitrites de 2000 à 2006 et issus de 8 laboratoires différents : Bordeaux, Montpellier, Rennes, Lille, Massy, Strasbourg, Lyon et la Réunion. Les capacités analytiques de ces 8 laboratoires ont été fournies par la DGCCRF.

Les résultats de ces plans comptaient 15 230 analyses de nitrites et nitrates. Cependant, des corrections ont été réalisées afin de lier ces données à celles de consommation issues de l'enquête INCA1 (correspondance de nomenclatures) :

- Suppressions de certains aliments (n = 943 analyses, soit 6 % des analyses totales), notamment :
  - les aliments spécifiques pour nourrissons, n'ayant pas de correspondance dans l'enquête de consommation INCA1 qui ne recueille pas les consommations des enfants de moins de 3 ans,
  - les aliments très peu consommés par la population française et pour lesquels l'enquête INCA1 ne présente pas de données de consommation.
- Suppression des analyses provenant du laboratoire de la Réunion, l'enquête INCA1 étant représentative des consommations françaises métropolitaines (n= 486 analyses, soit 3 % des analyses totales).
- Suppressions de certaines analyses non quantifiées et pour lesquelles nous ne disposons pas des données analytiques des laboratoires correspondants (n= 144 analyses, soit 1 % des analyses totales).

**Au final, 13 657 données de concentration de nitrites et nitrates ont été utilisées concernant 138 aliments pour les nitrates et 109 aliments pour les nitrites.**

#### Correspondance des denrées alimentaires

Les 13 657 aliments analysés ont été reliés aux denrées alimentaires présentes dans l'enquête INCA1. Cependant, il faut noter que certains aliments analysés ont eu du mal à être identifiés du fait que la base de données de concentration fournies par la DGCCRF présentait :

- des dénominations imprécises,
- des codifications non exploitables,
- des regroupements incompatibles avec les besoins de l'Afssa.

Par ailleurs, il faut souligner que ces données issues des plans sont très orientés vers les produits pour lesquels les usages de nitrites sont autorisés. Ainsi, certaines données de concentration portaient sur des produits transformés à base de viande, très peu consommés par la population française. Afin de ne pas supprimer ces nombreuses données sur les produits transformés et pour

<sup>14</sup> Volatier J-L. (2000). Enquête INCA individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Edition TEC&DOC.

lesquels les usages de nitrites sont autorisés, une nouvelle classe d'aliment a été créée : « les autres produits de salaison ou en conserves » comprenant :

- des produits transformés ou traités par les nitrites à base de viande (notamment poulet, dinde, porc, bœuf),
- les produits à base de viande en conserves.

L'enquête de consommation individuelle INCA1 recueille très peu de données concernant ces produits transformés à base de viande. Afin de prendre en compte « les autres produits de salaison ou en conserves » dans l'estimation de niveau d'exposition aux nitrates et aux nitrites de la population française, les consommations de ces différents produits transformés à base de viande ont été reliées aux consommations des viandes correspondantes, ce qui est très maximaliste.

### Ajustements sur les données de concentration

Les résultats des plans de surveillance présentent des résultats d'analyses d'aliments qui peuvent être :

- Quantifiés,
- Détectés mais non quantifiés,
- Non détectés,
- Inférieurs à un seuil spécifique.

Pour traiter les données censurées et leur attribuer une valeur, plusieurs hypothèses ont été réalisées, selon les lignes directrices internationales<sup>15</sup> (Tableau 1) :

- Hypothèse 1 : prise en compte
  - des valeurs quantifiées
  - des valeurs détectées mais non quantifiées, supposées égales à la LOD
  - des valeurs non détectées, supposées égales à 0
  - des valeurs inférieures à un seuil, supposées égales à 0
- Hypothèse 2 : prise en compte
  - des valeurs quantifiées
  - des valeurs détectées mais non quantifiées, supposées égales à  $(LOD+LOQ)/2$
  - des valeurs non détectées, supposées égales à la  $LOD/2$
  - des valeurs inférieures à un seuil, supposées égales à  $INF/2$
- Hypothèse 3 : prise en compte
  - des valeurs quantifiées
  - des valeurs détectées mais non quantifiées, supposées égales à la LOQ
  - des valeurs non détectées, supposées égales à la LOD
  - des valeurs inférieures à un seuil, supposées égales à INF

**Tableau 1: Les différents scénarii pour les valeurs de concentration**

Type de résultats	hypothèse 1	hypothèse 2	hypothèse 3
Quantifiés à une valeur	Valeur	valeur	valeur
Détectés mais non quantifiées	LOD	$(LOD+LOQ)/2$	LOQ
Non détectés	0	$LOD/2$	LOD
Inférieurs à une valeur seuil ( INF)	0	$INF/2$	INF

### Calcul des teneurs moyennes en nitrates et nitrites

D'après les lignes directrices internationales<sup>16</sup>, l'utilisation de la concentration moyenne dans les calculs d'apports représente une estimation réaliste et appropriée de l'exposition sur le long terme. Ainsi, une fois les teneurs déterminées, les moyennes doivent être calculées en fonction du pourcentage de données censurées (Tableau 2) selon :

- une estimation haute,
- une estimation basse.

<sup>15</sup> International Program on Chemical Safety/Gems/Food Euro Workshop on reliable evaluation of low level contamination of food, Kulmbach, Federal Republic Germany. May 1995.

<sup>16</sup> FAO/OMS, 1985, Guidelines for the study of dietary intakes of chemical contaminants Geneva : WHO, offset publication n°87.



**Tableau 2: Les différents scénarii pour les teneurs moyennes**

Teneur moyenne	censure <60%	60 <censure ≤ 100
Estimation haute	moyenne de l'hypothèse 2	moyenne hypothèse 3
Estimation basse	moyenne de l'hypothèse 2	moyenne hypothèse 1

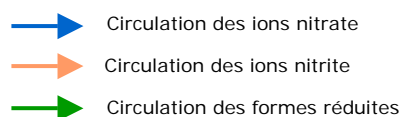
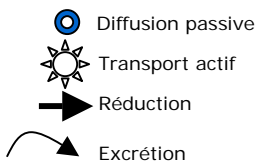
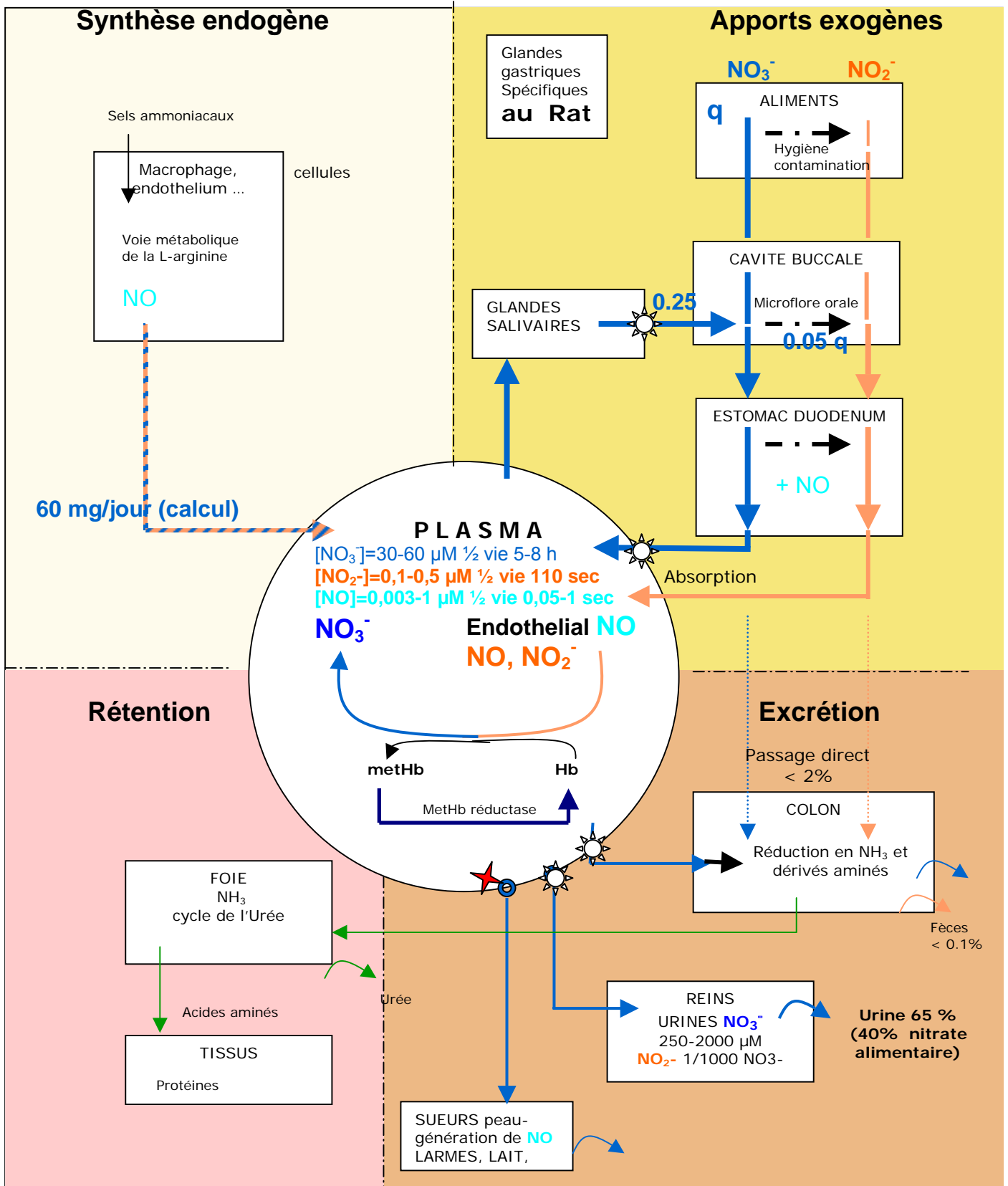
### 3. Conclusion

Certaines hypothèses de calculs ont été adoptées pour l'estimation haute des apports totaux journaliers en nitrites retenue dans le cadre de cette fiche.

- les données de consommation relatives aux aliments référencés dans la catégorie des « autres produits de salaison ou en conserve » et absents de la base de données INCA 1 ont été renseignées par les données de consommation des viandes correspondantes.
- dans la mesure où l'estimation haute à été retenue dans le cadre de la fiche et que beaucoup de résultats sont non quantifiés pour renseigner le niveau de contamination des aliments par les nitrites, en particulier pour les végétaux, les hypothèses de calculs 2 ou 3 ont été retenues. Ces estimations impliquent qu'aucune valeur analytique n'est prise égale à 0, même dans le cas des valeurs non détectées.

Ces hypothèses conduisent à une surestimation de l'exposition totale aux nitrites.

Annexe 2 – Fiche 19 : Métabolisme des nitrates (extracellulaire)



Incertitude à lever

**Annexe 3 – Fiche 19 : Composés et mélanges naturels inhibiteurs de la N-nitrosation****Vitamines**

E (acide ascorbique)  
E ( $\alpha$ -tocophérol)

**Composés phénoliques**

Catéchol  
Acides cinnamique, chlorogénique et  
gallique  
Hydroquinones  
Acides phénoliques  
Pyrogallol  
Acide tannique et tannins  
Thymol

**Mélanges complexes**

Extraits de noix de betel  
Café  
Jus de fruits  
Lait et produits laitiers  
Produits à base de soja  
Thé

**Composés soufrés**

Cystéine  
Glutathione  
Méthionine

**Composés divers**

Alcools  
Caféine  
Hydrates de carbone  
Acides gras insaturés  
Urée

D'après Bartsch *et al.*, 1988 ; Pignatelli *et al.*, 1985

#### Annexe 4 – Fiche 19 : Etudes épidémiologiques de la relation du risque de cancer avec l'exposition aux nitrates dans l'eau potable.

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Hill <i>et al.</i> 1973 Royaume Uni	Ecologique	Mortalité Concentration de nitrate 90 mg/l versus 10 mg/l	Estomac	Association de la mortalité par cancer et la teneur élevée de nitrate dans l'eau	Supérieure
Armio et Coulson. 1975 Chili	Ecologique	Utilisation d'engrais	Estomac	Association	Supérieure
Cuello <i>et al.</i> 1976 Colombie (Narino)	Cas-Témoin	Cancer n = 276; Témoins n = 276 Forte concentration de nitrate dans l'eau de puits jusqu'à 300 mg/l	Estomac	Association du risque de cancer avec la teneur élevée de nitrate dans l'eau des puits	Supérieure
Gelperin <i>et al.</i> , 1976 USA (Illinois)	Ecologique	Mortalité par cancer	Estomac Œsophage	Pas d'association de la mortalité par cancer avec le niveau de nitrate dans l'eau potable	Inférieure
Zaldivar et Vetterstrand, 1978 Chili (25 provinces)	Ecologique	Mortalité par cancer Concentration de nitrate < 50 mg/l moyenne = 6,4 mg/l	Estomac	Tendance à une corrélation positive de la mortalité par cancer avec le niveau de nitrate dans l'eau mais pas statistiquement significative	Inférieure
Juhász <i>et al.</i> 1980 Hongrie	Ecologique	Fréquence du cancer	Estomac	Association de la fréquence de cancer avec le niveau de nitrate dans l'eau	Supérieure
Zemla. 1980 Pologne	Ecologique	Fréquence du cancer (1965-1975) Deux districts avec variations de la qualité de l'eau dont la concentration en nitrate	Estomac	Association de la fréquence de cancer avec la concentration de nitrate	Supérieure
Thouez <i>et al.</i> , 1981 Canada (Province de Québec)	Ecologique	Mortalité	Cerveau et système nerveux central  Prostate	Association du risque de cancer avec l'exposition au nitrate dans l'eau potable  Association du risque de cancer avec l'exposition au nitrate dans l'eau potable	Supérieure

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Jensen <i>et al.</i> , 1982 Danemark	Ecologique	Fréquence du cancer	Estomac	Association de la fréquence du cancer avec l'exposition au nitrate lorsque la concentration > 30 mg/l	
Vincent <i>et al.</i> , 1983 France (Nord)	Ecologique	Mortalité par cancer (1968-1975) Mesure de nitrate (1974-1976) 93% < 43 mg/l	Estomac	Pas d'association de la mortalité par cancer et le niveau de nitrate dans l'eau potable	Inférieure
Gilli <i>et al.</i> , 1984 Italie (Piémont)	Ecologique	Fréquence de cancer Concentration de nitrate > 20mg/l versus faible	Estomac	Association de la fréquence du cancer avec les concentrations de nitrate dans l'eau potable	
Beresford, 1985 Royaume Uni (253 zones urbaines)	Ecologique	Mortalité par cancer (1969-1973) Concentration de nitrate < 100 mg/l	Estomac	Association inverse entre la mortalité par cancer et la concentration de nitrate dans l'eau potable	Inférieure le plus souvent
Zaldivar <i>et al.</i> , 1987 Allemagne	Ecologique	Mortalité	Estomac	Pas d'association entre la mortalité par cancer et le niveau de nitrate dans l'eau	Inférieure
Sanz Anquela <i>et al.</i> , 1989 Espagne (Province de Soria)	Ecologique	Mortalité et fréquence de cancer Concentration de nitrate < 50 mg/l le plus souvent	Estomac	Association de la mortalité et la fréquence de cancer avec la teneur du nitrate dans l'eau potable	Inférieure
Nousbaum, 1989 France	Cas Témoin	Cancer n = 143 Témoins n = 579	Estomac	Association positive entre cancer et niveau de nitrate seulement pour les femmes	
Cauvin <i>et al.</i> 1990 France		Concentration de nitrate > 75 mg/l versus faible	Estomac	Association positive entre cancer et niveau de nitrate	Supérieure
Boeing <i>et al.</i> , 1991 Allemagne	Cas témoin	Comparaison régions à haut et bas risque de cancer Cas n = 143 Témoins n = 579 Comparaison eau de puits et du réseau publique	Estomac	Association du risque de cancer avec la consommation d'eau de puits	

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Leclerc <i>et al.</i> , 1991 France	Ecologique	Mortalité et fréquence de cancer Concentration de nitrate < 50 mg/l	Estomac Système urinaire	Pas d'association de la mortalité ou de la fréquence de cancer avec le niveau de nitrate dans l'eau potable	Inférieure
Weisenburger, 1991 USA (Nébraska)	Ecologique	Fréquence du cancer Concentration de nitrate dans l'eau de 20% des puits > 40 mg/l	Lymphome non- Hodgkinien	Association entre la fréquence de cancer et la teneur en nitrate > 40 mg/l	
Rademacher <i>et al.</i> , 1992 USA	Cas-Témoin	Mortalité cas n = 1268 Concentration moyenne de nitrate la plus élevée = 29,8 mg/l	Estomac	Pas d'association entre la mortalité par cancer et le niveau de nitrate	Inférieure
Xu <i>et al.</i> , 1992 Chine (Péninsule de Shandong)	Croisée	Changements néoplastiques de la muqueuse cancer + dysplasie n= 30; métaplasie n = 32; normal n = 30 Nitrate : concentration moyennes: 60-138 mg/l	Estomac	Association du risque de cancer avec le nitrate dans l'eau	Supérieure
Morales Suarez-Valera <i>et al.</i> , 1993 Espagne (Région de Valence)	Ecologique	Niveaux de nitrate particulièrement élevés dans la province de Valence. Fréquence du cancer pour différents niveaux d'exposition au nitrate dans la province de Valence.	Vessie	Risque relatif de cancer > 1 dans la province de Valence associé à la consommation d'eau contenant une concentration moyenne de nitrate > 50 mg/l	Supérieure
Steindorf <i>et al.</i> , 1994 Allemagne	Cas-Témoin	Cancer (1987-1988) n = 173 Division de la population en quartiles selon les niveaux de nitrate dans l'eau du réseau de distribution publique après 1970 (Quartile le plus élevé: >25,2 mg/l	Cerveau et système nerveux central	Pas d'association entre le risque de cancer et le niveau de nitrate dans l'eau potable	Inférieure

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Morales-Suarez-Valera <i>et al.</i> , 1995 Espagne (Province de Valencia, 258 municipalités)	Ecologique	Mortalité par cancer Concentration de nitrate > 50 mg/l versus faible	Estomac  Colon Vessie  Prostate	Association entre la mortalité par cancer et le niveau de nitrate dans l'eau potable Lorsque concentration > 50 mg/l RR = 1,9 (H); 1,8 (F)  Pas d'association Pas d'association  Association entre la mortalité par cancer et le niveau de nitrate dans l'eau potable	Supérieure
Han <i>et al.</i> , 1995 Chine	Ecologique	Mortalité par cancer Deux groupes de population buvant de l'eau avec des concentrations différentes de nitrate et nitrite	Estomac	Association entre la mortalité par cancer et le niveau d'exposition au nitrate dans l'eau	Supérieure
Van Maanen <i>et al.</i> , 1996	croisée	Génotoxicité: fréquence des variants de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase dans les lymphocytes du sang périphérique Quatre groupes avec des concentrations faibles (fa) ou fortes (fo) de nitrate: eau du réseau publique fa 0,02 mg/l, n = 14; fo, 18 mg/l, n = 21 eau des puits fa, 25 mg/l, n = 6; fo, 140 mg/l, n = 9	Génotoxicité	Association du risque de génotoxicité avec la teneur en nitrate dans l'eau, en particulier celle provenant des puits	Supérieure pour 9/41
Ward <i>et al.</i> , 1996 USA (Nebraska)	Cas-Témoin	Fréquence du cancer (1983-1986), Cas n = 156; Témoins n = 527 Division de la population en quartiles selon les niveaux de nitrate dans l'eau du réseau de distribution publique de 1945- début 1980 (le plus bas 7,1 et le plus fort 17,7 mg/l)	Lymphome non- Hodgkinien	Association de la fréquence de cancer avec le niveau de nitrate dans l'eau potable > 18 mg/l Association plus forte pour les faibles consommateurs de vitamine C et carotène	Inférieure

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Moller <i>et al.</i> , 1997 Danemark	Cas-Témoin	Cancer chez descendants Parents agriculteurs; résidence dans l'enfance (campagne, zone avec forte concentration de nitrate dans l'eau	Testicules	Association <u>probablement indirecte</u> du risque avec résidence dans l'enfance dans zone avec forte concentration de nitrate dans l'eau Excès de risque limité aux hommes qui n'avaient pas grandi dans une ferme ou à la campagne	
Barret <i>et al.</i> , 1998 Royaume Uni (Yorkshire)	Ecologique	Fréquence du cancer (1975-1994)  Nitrate (1990-1995) Concentration moyenne la plus basse: 2,4 mg/l; la plus élevée = 29,8 mg/l	Estomac Œsophage  Cerveau et système nerveux central	Pas d'association du risque de cancer avec le niveau de nitrate dans l'eau potable  Association du risque de cancer avec le niveau de nitrate dans l'eau potable (pour une concentration moyenne > 29,8 mg/L) RR = 1,2	Inférieure
van Loon <i>et al.</i> , 1997 et 1998 Pays Bas	Cohorte prospective n = 120852	Fréquence (1986-1992) Cas H n= 319; F n = 63 Subcohort H n = 1688; F n = 1812 Prise de nitrate à partir de l'eau des réseaux de distribution publique; concentration la plus élevée de nitrate = 40 mg/l; consommation moyenne de nitrate apporté par l'eau: 3,7 mg/jour	Estomac	Pas d'association entre la fréquence de cancer et la consommation de nitrate par l'eau potable.	Inférieure
Sandor <i>et al.</i> , 1998	Ecologique	Mortalité par cancer Nitrate moyenne: 98 mg/l Facteurs pris en compte: tabac, ethnies	Estomac	Association de la mortalité par cancer avec la concentration de nitrate dans l'eau potable; Valeur de référence pour une augmentation significative du risque de cancer: niveau de nitrate > 95 mg/l	Supérieure
Yang <i>et al.</i> , 1998 Taiwan.	Cas témoin	Mortalité par cancer (1987-1991) concentration de nitrate << 50 mg/l 3 groupes avec différentes concentrations de nitrate	Estomac	Association entre la mortalité par cancer et l'exposition au nitrate dans l'eau potable	Inférieure



Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Law <i>et al.</i> , 1999 Royaume Uni	Ecologique Population n = 20 702	Fréquence de cancer (1984-1993) en fonction de trois niveaux de concentrations de nitrate dans l'eau potable (< 3,24 ; 3,24-14,85 et > 14,85 mg/L ; concentration en nitrate mesurées de 1990-1995) ; moyenne de 12 mg/L ; la plus forte 40 mg/L	Lymphome non-Hodgkinien	Pas d'association entre la fréquence de cancer et la teneur en nitrate dans l'eau potable. Cependant, une association a été observée sur la période 1984-1988.	Inférieure
Van Leeuwen <i>et al.</i> , 1999 Canada (Ontario)	Ecologique	Fréquence de cancers, Niveaux d'atrazine (50-649 ng/l) et de nitrate (0,22- 34,5 mg/l: moyenne 8 mg/l) dans l'eau et pratiques agricoles (1987-1991)	Estomac  Colon	Association <i>inverse</i> de la fréquence de cancer avec la concentration de nitrate Association entre la fréquence de cancer avec la concentration d'atrazine  Pas d'association de la fréquence de cancer avec la concentration de nitrate Association <i>inverse</i> de la fréquence de cancer avec la concentration d'atrazine  Association entre les concentrations de nitrate et celles d'atrazine	Inférieure
Freemann <i>et al.</i> , 2000 USA (Minnesota, exclusion des 4 plus grandes villes)	CasTémoin	Population H, Cancer Cas n = 73 (1980-1982); Témoins n = 147 Division de la population selon une estimation, à partir du lieu de résidence et enregistrements des analyses, de trois niveaux de nitrate dans l'eau du réseau de distribution publique (1947-1975) médiane: 10,6 mg/l; 0,44-31,9 mg/l	Lymphome non-Hodgkinien	Pas d'association entre le risque de cancer et le niveau d'exposition au nitrate dans l'eau (jusqu'à une exposition moyenne de 10,6 mg/l)	Inférieure

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Mueller <i>et al.</i> , 2001 USA (Comté de Los Angeles, Région de la baie de San Francisco, Californie, Région ouest de Washington )	Cas Témoin	Occurrence tumeurs chez descendants (1984-1990) Cas n = 540; Témoins n = 801 Distinction de la source d'eau potable, soit des puits privés soit le réseau publique durant la grossesse. Mesure du niveau de nitrate et de nitrate dans l'eau pour les personnes ayant la même résidence que pendant leur grossesse.	Cerveau (chez l'enfant)	Globalement, pas d'association entre le risque de cancer chez les descendants et la source d'eau potable. OR = 1,2 CI 95% 0,8-2,2 Utilisation de puits dans l'ouest de l'état de Washington associée à un accroissement du risque chez les descendants. OR = 2,6 CI 1,3- 5,2 Association inverse entre le risque de cancer chez les descendants et la source d'eau potable dans le comté de Los Angeles.	Inférieure à 99%
Sandor <i>et al.</i> , 2001 Hongrie	Ecologique	Population n = 108000; Mortalité par cancer (1984-1993) n = 407 Mesure des concentrations de nitrate (1974-1993); médiane: 72 mg/l; 95%: 290,7mg/l	Estomac	Association de la mortalité par cancer avec la concentration de nitrate (log de la moyenne); analyse de régression linéaire Exposition > 88 mg/l entraîne une élévation significative du risque	Supérieure (le plus souvent)
Ward <i>et al.</i> , 2001			Lymphome non- Hodgkinien	Pas d'association	

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Weyer <i>et al.</i> , 2001 USA (Iowa)	Cohorte prospective	Femmes n = 21977 utilisant le même approvisionnement en eau durant plus de 10 ans; réseau publique n = 16541; puits n = 5436 Cancers (1986-1998), cas n = 3150 Estimation exposition nitrate (1955-1988), cut points des quartiles: 1,6 4,5 et 10,9 mg/l	Vessie Ovaire  Rectum Utérus  Lymphome non-Hodgkinien Leucémie, Mélanome Colon, Sein, Poumon, Pancréas	Association de la fréquence de cancer avec la concentration de nitrate  Association <i>inverse</i> de la fréquence de cancer avec la concentration de nitrate  Pas ou faible tendance non significative à une association de la fréquence de cancer avec la concentration de nitrate	Inférieure

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Gulis <i>et al.</i> , 2002 République slovaque (District de Trnava, agricole)	Ecologique n = 189 600	Cas de cancer (1986-1995) Division de la population selon les niveaux moyens de nitrate dans l'eau potable de 1975-1995 en mg/l: bas = 0- 10, medium = 10,1-20 et haut = 20,1-50	Estomac  Colorectal  Lymphome non- Hodgkinien  Vessie Rein	Tendance à une association du cancer avec la teneur de nitrate dans l'eau seulement pour les sujets féminins SIR (95% CI): 0,81 (0,48-1,34); 0,94 (0,67-1,33); 1,24 (0,91-1,70); p<0,10  Association du cancer avec la teneur de nitrate dans l'eau SIR (95% Ci) respectifs pour les trois niveaux de nitrate: H/F: 0,71 (0,57-0,88); 1,05 (0,92-1,20); 1,18 (1,04-1,34); p< 0,001  Association du cancer avec la teneur de nitrate dans l'eau SIR (95% Ci) respectifs pour les trois niveaux de nitrate: H/F: 0,36 (0,11-1,11); 1,26 (0,82-1,93); 1,22 (0,76-1,96); p< 0,02  Pas d'association Pas d'association	Inférieure
Cocco <i>et al.</i> , 2003 Italie (Sardaigne) 153 communes	Cas Témoin	Population n = 703000; Fréquence de cancer (1974-1993) , n = 737 Concentrations de nitrate dans l'eau (1971-1994) , moyenne: 4,57 mg/l; ≤ 2-26,64 mg/l	Lymphome non- Hodgkinien	Association entre la fréquence de cancer et les concentrations de nitrate dans l'eau des réseaux communaux mais seulement pour les sujets masculins(preuve limitée)	Inférieure

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Ward <i>et al.</i> , 2003 USA (Iowa)	Cas Témoin	Cancer de la vessie (1986-1989) cas n = 808; Témoins n = 1259 Division de la population (sujets masculins H; sujets féminins F) selon les niveaux moyens de nitrate dans l'eau du réseau publique de 1960-1987. Le plus haut quartile: H, 13,7 mg/l; F, 10,6 mg/l Faible proportion de la population exposée à plus de 44,3 mg/l de nitrate Nombre d'années d'exposition > 44,3 mg/l	Vessie	Pas d'association entre le risque de cancer et les quartiles croissants du niveau de nitrate dans l'eau potable pour les sujets féminins. Association <i>inverse</i> pour les sujets masculins. Mêmes résultats lorsque considération du nombre d'années d'exposition au nitrate > 44,3 mg/l	Inférieure
De Roos <i>et al.</i> , 2003 USA (Iowa)	Cas Témoin	Fréquence du cancer (1986-1989), Cas n = 376 (colon); Cas n = 338 (rectum) Témoins n = 1244 Division de la population en quartiles selon les niveaux moyens de nitrate dans l'eau du réseau de distribution publique de 1960-1987 (le plus faible 4,4 et le plus fort 22,1 mg/l) et nombre d'années d'exposition > 22,1 et >44,3 mg/l	Colon  Rectum	Risque de cancer du colon seulement t plus élevé pour des sous groupes exposés à une teneur de nitrate dans l'eau >22,1 mg/l pendant 10 ans ou plus et une faible consommation de vitamine C ou une forte consommation de viande Pas d'association du cancer avec plus de 5 ans d'exposition au nitrate > 44,3 mg/l  Pas d'association	Inférieure
Zhang <i>et al.</i> , 2003 Chine (Province de Hebei)	Ecologique	Cancer (1991-1995) dans 2 régions: Cixian, haute fréquence de cancer; Chichen, plus faible fréquence de cancer. Nitrate dans eau de puits, moyenne =38,8 mg/l, Cixian moyenne = 17 mg/l, Chichen	Œsophage	Corrélation positive (coeff 0,5992) entre le niveau de nitrate dans l'eau des puits et la mortalité par cancer.  Pollution liée à l'utilisation d'engrais azotés	

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Coss <i>et al.</i> , 2004 USA (Iowa)	Cas Témoin	Inclusion: Cancer du pancréas (1985-1987) n = 189 ; Témoins n= 1244 Division de la population en quartiles selon les niveaux moyens de nitrate dans l'eau du réseau de distribution publique de 1960-1987: moyenne = 5,6 mg/l; échelle interquartiles, 2,6 à 12,4 mg/l et nombre d'années d'exposition à des niveaux > 33,2 et 44,3 mg/l concernant moins de 25% des cas et témoins 50% des cas et 49% des témoins non inclus en majorité car utilisant eau de puits	Pancréas	Pas d'association entre le risque de cancer et les quartiles croissants du niveau de nitrate dans l'eau potable ou le nombre d'années d'exposition à des concentrations de nitrate > 32,2 et 44,3 mg/l  Pour 75% de la population l'apport de nitrate par l'eau est < 10% L'apport de nitrate majoritaire par l'alimentation et surtout les légumes Remarque des auteurs: limite de l'analyse pour des niveaux de nitrate largement inférieurs à 22 mg/L	Inférieure
Mueller <i>et al.</i> , 2004	Cas Témoin Multicentrique 5 pays, 7 régions	Cas n = 836 Témoins n = 1485 Information par les mères de la source d'eau (puits ou réseau publique) du lieu de résidence pendant la grossesse Mesure des niveaux de nitrate dans l'eau du robinet; < 10 mg/l (63% des cas; 56% des témoins); < 50 mg/l (92% des cas et des témoins)	Cerveau (chez l'enfant)	Association du risque de cancer avec la dépendance de l'utilisation de l'eau de puits pendant la grossesse par comparaison avec l'eau du réseau publique dans deux des sept régions: Canada OR = 5,3 CI 1,2-23,1; Seattle OR = 2,6 CI 1,3-5,4 Association inverse pour la région de Los Angeles: OR = 0,2 CI 0,1-0,8 Pas d'association du risque avec la teneur de nitrate mais mesurée pour une partie seulement des sujets et des années après la grossesse. Biais possibles discutés	Inférieure pour 92% des cas de cancer et témoins

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Ward <i>et al.</i> , 2004 USA (Nébraska)	Cas Témoin	Cancer (1988-1993) Division de la population en quartiles selon les niveaux moyens de nitrate dans l'eau du réseau publique de 1960-1986	Cerveau (gliome)	Pas d'association du risque de cancer avec les quartiles croissants du niveau de nitrate dans l'eau potable.	
Volkmer <i>et al.</i> , 2005 Allemagne	Cohorte Communauté n = 67290	Cancers du système urologique (1986- 1997), n = 527; Fréquence pour 100 00 habitants/an Pendant 28 ans (1957-1986), distribution d'eau avec différentes concentrations de nitrate: groupe A, 60 mg/l, n = 57253 groupe B, 10 mg/l, n = 10037	Cancer urothélial  Rein, prostate, penis  Testicules	Association avec la fréquence de cancer  Pas d'association avec la fréquence de cancer  Corrélation <i>inverse</i> avec la fréquence de cancer	Supérieure pour les cas de cancer
Ward <i>et al.</i> , 2005 USA (Nébraska)	Cas Témoin	Cancer Mesures historiques de nitrate dans sources d'eau des lieux de résidence; moyennes calculées sur 20 ans	Cerveau (gliome)	Pas d'association entre le risque de gliome et le niveau moyen de nitrate dans l'eau potable	
Ward <i>et al.</i> , 2006 USA (Iowa)	Cas Témoin	Cancer (1998-2000) Cas n = 181; Témoins n = 142 Mesures de nitrate dans l'eau des réseaux publiques à partir de 1960 (moyenne 13,3 mg/l)	Lymphome non- Hodgkinien	Pas d'association entre le risque de cancer et la concentration de nitrate dans l'eau potable.	Inférieure

Référence Pays	Conception de l'étude	Facteurs d'exposition	Sites du cancer	Résultats principaux	Exposition: comparaison avec valeur max légale 50 mg/l
Zeegers <i>et al.</i> , 2006 Pays Bas	Cohorte n = 120 852	Fréquence de cancer (1986-1995) n = 871 Témoins subcohorte n = 4359 Estimation concentration nitrate dans eau à partir données disponibles en 1986 et calcul de la quantité d'eau consommée par questionnaire concentration moyenne $5,3 \pm 6,2$ mg/l, cas $4,9 \pm 6,2$ mg/l,	Vessie	Pas d'association entre le risque de cancer et la teneur de nitrate dans l'eau potable mais niveaux de nitrate particulièrement bas	Très inférieure.
Kuo <i>et al.</i> , 2007 (Taiwan)	Cas Témoin	Mortalité par cancer 1999-2003 Concentration de nitrate dans l'eau du lieu de résidence	Rectum	haut tertile OR = 1,36 (1,08-1,70) bas tertile OR = 1,22 (0,98-1,52) Etude non conclusive; autres investigations nécessaires	
Chiu <i>et al.</i> , 2007 Taiwan	Cas Témoin	Mortalité par cancer 1999-2003 Concentration de nitrate dans l'eau du lieu de résidence	Vessie	haut tertile OR = 1,96 (1,41-2,72) bas tertile OR = 1,76 (1,28-2,42) Association entre la mortalité par cancer et le niveau de nitrate dans l'eau potable	
Yang <i>et al.</i> , 2007 Taiwan	Cas Témoin	Mortalité par cancer 1999-2003 Concentration de nitrate dans l'eau du lieu de résidence	Colon	haut tertile OR = 10,98 (0,84-1,14) bas tertile OR = 0,98 (0,83-1,16) Pas d'association entre la mortalité par cancer et le niveau de nitrate dans l'eau potable	

**Abréviations :**

F : Femmes	CI : Intervalle de confiance
H : Hommes	RR : risque relatif
OR : Odds Ratio	SIR : taux d'incidence standardisé



## Annexe 5 – Fiche 19 : VTR chroniques proposées pour la NDMA

Des VTR chroniques sont proposées par différentes instances pour la NDMA, qui est une des nitrosamines les plus étudiées.

### OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment of California)

Cette instance a déterminé un Public Health Goal (PHG) de 0,003 µg/L pour l'eau destinée à la consommation humaine. Cette concentration dans l'eau est associée à un excès de risque de cancer de  $10^{-6}$ , dès lors que cette eau est ingérée pendant la vie entière.

Les données scientifiques sur la génotoxicité et le mécanisme de la cancérogenèse de la NDMA ainsi que la cancérogénicité chez l'animal et la forte probabilité de la cancérogénicité chez l'homme ont conduit cette instance à conclure que la NDMA dans l'eau de boisson présente un risque cancérogène.

En utilisant les données de Peto *et al.* (1991a) une relation dose réponse est dérivée en se basant sur l'occurrence des tumeurs du conduit biliaire chez les rats femelles et en utilisant un modèle multi étape linéarisé. Le modèle est utilisé pour estimer la dose associée avec une incidence de 10 % des tumeurs. Une relation linéaire permet une extrapolation aux faibles doses et la détermination d'un niveau de risque de  $10^{-6}$  cas de cancer supplémentaire. Un équivalent de dose pour l'homme est déterminé. Cette instance estime que l'exposition par inhalation ou voie cutanée n'est que très peu contributive à l'exposition.

### US EPA (Environmental Protection Agency des Etats-Unis)

L'US EPA classe cette substance dans la catégorie B2 : probablement cancérogène pour l'homme : données disponibles uniquement chez l'animal. Cette instance se fonde sur l'étude de Peto *et al.* (1984). Une relation dose réponse est construite en se fondant sur l'observation de tumeurs hépatiques chez les rats femelles. Un "Oral Slope Factor" est calculé à partir de ces observations [ $51 \text{ (mg/kg/j)}^{-1}$ ]. Cette instance propose un Water Unit Risk de  $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ (}\mu\text{g/L)}^{-1}$ , soit une concentration de 0,0007 µg/L (0,7 ng/L) dans l'eau de boisson associée à un excès de risque de cancer de  $10^{-6}$ .

### Allemagne

L'Agence fédérale allemande pour la protection de l'environnement a établi une valeur guide dans l'eau pour la NDMA de 10 ng/L. Les allemands fondent leur démarche sur les études de Lutz (1999) et de Tricker *et al.* (1991).

- L'étude de Tricker *et al.* (1991) est une étude d'exposition alimentaire qui montre que parmi les 1000 ng/j de nitrosamines ingérées, 200 ng sont de la NDMA.
- L'étude de Lutz (1999) conduit à un excès de risque de cancer de  $8 \cdot 10^{-6}$  associé à l'exposition à l'ensemble des nitrosamines présentes dans les aliments. Cet excès de risque serait lié à la NDMA (200 ng/j), soit un excès de risque de cancer de  $1 \cdot 10^{-6}$  lié à l'ingestion de 25 ng/j de NDMA. Ainsi, l'ingestion quotidienne de 10 ng/L de NDMA via l'eau serait associée à un excès de risque de  $1 \cdot 10^{-6}$ .

### Canada

Santé Canada propose une évaluation des risques liés à la NDMA (Environment Canada, 2000). Cette instance se fonde sur les deux études qu'elle juge les plus pertinentes pour proposer une relation dose réponse pour la NDMA : Brantom (1983) et Peto *et al.* (1991) qui ont exposé des rats mâles et femelles à de la NDMA via l'eau de boisson. Une  $TD_{05}$  de 34 µg/kg p.c./j ( $TD_{05}$  : la dose qui entraîne une augmentation de 5% de l'incidence des tumeurs par rapport aux témoins) a été calculée à l'aide d'un modèle multi-étape linéarisé.

L'Ontario (Canada) propose une concentration maximale acceptable dans l'eau de boisson de 9 ng/L (Cheng *et al.*, 2006).

Tableau – annexe 6 : valeurs toxicologiques de référence proposées pour la NDMA par différentes instances

Source	Valeur de référence dans l'eau de boisson		Etude	Espèce	Effet
OEHHA (2006)	PHG Public Health Goal	0,003 µg/L Excès de risque cancer (10 <sup>-6</sup> )	Peto <i>et al.</i> (1991a)	Rat	Tumeur hépatique
IRIS US EPA (1986) Actualisation 1993	Oral Slope Factor Drinking Water Unit Risk	51 (mg/kg/j) <sup>-1</sup> 1,4.10 <sup>-3</sup> per (µg/L) ou 0,0007 µg/L Excès de risque cancer (10 <sup>-6</sup> )	Peto <i>et al.</i> , 1984	Rat	Tumeur hépatique
Allemagne	Valeur Guide	0,01 µg/L Excès de risque cancer (10 <sup>-6</sup> )	(Lutz 1999) (Tricker <i>et al.</i> ,1991)		