



RAPPORT D'ÉTUDE
N°DRC-08-94380-12195A

31/10/2008

De la méthodologie VTR à l'établissement des DNEL :
Comparaison méthodologique et études de cas EAT-
DRC 08 - Opération A

INERIS

*maîtriser le risque |
pour un développement durable |*

De la méthodologie VTR à l'établissement des DNEL : Comparaison méthodologique et études de cas

EAT-DRC 08 - Opération A

Direction des Risques Chroniques
Expertise et Evaluations en Toxicologie
Verneuil en Halatte

Client: MEEDAT

Liste des personnes ayant participé à l'étude : Stéphanie Vivier, Céline Botineau, Sylvie Tissot

PRÉAMBULE

Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

La responsabilité de l'INERIS ne pourra être engagée si les informations qui lui ont été communiquées sont incomplètes ou erronées.

Les avis, recommandations, préconisations ou équivalents qui seraient portés par l'INERIS dans le cadre des prestations qui lui sont confiées, peuvent aider à la prise de décision. Etant donné la mission qui incombe à l'INERIS de par son décret de création, l'INERIS n'intervient pas dans la prise de décision proprement dite. La responsabilité de l'INERIS ne peut donc se substituer à celle du décideur.

Le destinataire utilisera les résultats inclus dans le présent rapport intégralement ou sinon de manière objective. Son utilisation sous forme d'extraits ou de notes de synthèse sera faite sous la seule et entière responsabilité du destinataire. Il en est de même pour toute modification qui y serait apportée.

L'INERIS dégage toute responsabilité pour chaque utilisation du rapport en dehors de la destination de la prestation.

	Rédaction	Vérification	Approbation
NOM	Stéphanie Vivier	Sylvie Tissot	Eric Thybaud
Qualité	Ingénieur à l'unité ETSC	Responsable de l'unité ETSC	Responsable du pôle VIVA
Visa			

RESUME

Dans le cadre du programme EAT - DRC08, l'INERIS doit apporter son expertise sur les valeurs toxicologiques de référence (VTR). La mise en place du règlement REACH et du document guide associé sur la relation dose-réponse a permis de souligner le besoin du passage de la méthodologie VTR à l'établissement des DNEL. Une comparaison des "VTR académiques" versus les DNEL a donc été initiée pour la mise en œuvre de REACH en appui aux pouvoirs publics (Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire -MEEDDAT).

Cette comparaison méthodologique a été conduite afin de mettre en évidence les points clés essentiels sur les divergences/similitudes des VTR et des DNEL. Des études de cas ont également été réalisées. Les substances retenues pour les études ont été choisies en fonction de leurs caractéristiques de danger et leur caractère préoccupant selon REACH.

Ces comparaisons ont mis en évidence de grandes similitudes méthodologiques entre VTR et DNEL, associées à de légères différences numériques, plus marquées pour la voie respiratoire. Globalement, il s'agit du facteur d'incertitude inter-espèces qui a été le plus fréquemment à l'origine des divergences (en raison de l'ajustement allométrique AS notamment), d'autres points pouvant également s'ajouter comme l'incertitude liée à la durée d'exposition.

Par ailleurs, il a été souligné que l'intervention du jugement d'expert à plusieurs étapes de l'élaboration des DNEL ou des VTR "académiques" est également cause des divergences numériques. Ceci a permis de mettre en exergue que la relation dose-réponse doit être considérée de manière globale vis-à-vis des informations disponibles et ne peut reposer que sur l'analyse de la méthode de construction employée. A ce titre, les études de cas ont montré que l'utilisation de l'ensemble des informations disponibles sur le profil toxicologique d'une substance permet d'obtenir des DNELs plus affinées (exemple du bore). Or, les DNEL seront élaborées à partir de profils toxicologiques plus complets et plus adaptés qu'auparavant pour l'identification des effets critiques, en raison de leur lien avec REACH.

Considérant que les méthodologies sont proches et que les DNEL vont potentiellement s'appuyer sur des profils toxicologiques plus complets, il est donc apparu justifié et pertinent de recommander l'établissement et l'utilisation de DNELs.

Par ailleurs cette comparaison a permis d'appliquer la méthodologie DNEL et ainsi d'identifier plusieurs faiblesses du document guide qui devrait être amélioré.

TABLE DES MATIÈRES

1. GLOSSAIRE	8
2. INTRODUCTION	10
3. REACH ET DNELS.....	11
3.1 Le règlement REACH	11
3.2 Définitions des DNEL/DMEL	12
3.3 Contexte d'établissement des DNEL/DMEL	13
4. LA METHODOLOGIE D'ETABLISSEMENT DES DNEL/DMEL.....	15
4.1 Evaluation des dangers pour la santé humaine	15
4.2 Schéma général de construction des DNEL-DMEL	15
4.3 Etablissement de la DNEL	16
4.3.1 Etape a : Sélection de la dose critique pertinente.....	16
4.3.2 Etape b : Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée.....	17
4.3.2.1 Objectif.....	17
4.3.2.2 Calcul de la dose critique corrigée	17
4.3.2.2.1 Ajustement sur les différences d'absorption entre animaux et humains .	17
4.3.2.2.2 L'extrapolation - transposition voie à voie	17
4.3.2.2.3 L'ajustement des conditions d'exposition	19
4.3.2.2.4 Ajustement des volumes respiratoires.	20
4.3.2.3 Exemples d'ajustement de la dose critique.....	21
4.3.3 Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour la voie d'exposition pertinente.....	22
4.3.3.1 Facteur d'incertitudes lié aux variations inter-espèces	22
4.3.3.2 Facteurs d'incertitude lié à la variabilité inter individuelle.....	25
4.3.3.3 Facteur d'incertitude lié à une transposition de durée d'exposition	26
4.3.3.4 Facteurs d'incertitude liés à la relation dose - réponse ou lié à la dose critique	27
4.3.3.5 Facteurs d'incertitude liés à la qualité des données	28
4.3.3.6 Synthèse des valeurs numériques des facteurs d'incertitude par défaut...	28
4.3.4 Utilisation du modèle PBPK pour établir les facteurs d'incertitudes	29
4.3.5 Application des facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la DNEL spécifique d'un effet pour une voie d'exposition pertinente.....	30
5. COMPARAISON DNEL/VTR	32
5.1 Démarche suivie	32
5.2 DNELs pour les effets reprotoxiques.....	33
5.2.1 DNELs pour les effets sur le développement	33

5.2.1.1	L'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE)	33
5.2.1.2	Bore.....	36
5.2.1.3	Chloroéthane.....	38
5.2.1.4	Hexachlorobenzène	41
5.2.2	DNELS pour les effets sur la fertilité.....	42
5.2.2.1	EGEE.....	42
5.2.2.2	Hexachlorobenzène	44
5.3	DNEL pour les effets systémiques	45
5.4	DNEL pour les effets cancérogènes.....	47
5.5	Conclusions et perspectives	49
5.6	Références	51
5.7	Liste des annexes	52

1. GLOSSAIRE

ABS : Absorption

AF : Assessment factor (facteurs d'incertitude, autrement dénommés UF).

ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Etats Unis).

BMC/D : Benchmark Concentration / Dose.

BMDL : Benchmark dose lower confidence limit.

BMDxLy : Limite inférieure de l'intervalle de confiance à y % de la dose correspondant à un niveau de réponse de x %.

DNEL : Derived No Effect Level (dose dérivée sans effet).

gd : jour de gestation.

IARC : International Agency for Research on Cancer (CIRC).

IPCS : International Programme on Chemical Safety.

IRIS : Integrated Risk Information System (Base de données de l'US EPA).

LD/LC50 : Létal Dose/Concentration 50% (après administration aiguë)

LOAEC : Lowest Observed Adverse Effect Concentration (concentration minimale entraînant un effet néfaste observé).

LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level (dose minimale entraînant un effet néfaste observé).

MRL : Minimal Reference Level (VTR de l'ATSDR).

NOAEC : No Observed Adverse Effect Concentration (concentration maximale sans effet néfaste observé).

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (dose maximale sans effet néfaste observé).

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique.

OEHHA : Office of Environmental Health Hazard Assessment (EPA de Californie).

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OR : Odds Ratio.

PBPK : Physiologically-Based Pharmacokinetic (modèles physiologiques toxicocinétiques).

pc : poids corporel.

REACH : Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals (enRegistrement, Evaluation, Autorisation et restrictions des produits Chimiques).

REL : Reference Exposure Level (dose d'exposition de référence, VTR de l'OEHHA).

RIP : REACH Implementation Project (projet de mise en œuvre du règlement REACH).

RIVM : Institut National de la santé public et de l'environnement des Pays-Bas (Rijksinstituut voor volksgezondheid en milieu).

RfC : Reference Concentration (concentration de référence, VTR de l'US EPA).

RfD : Reference Dose (dose de référence, VTR de l'US EPA).

RR : Risk Ratio.

sRV : standard Respiratory Volume

VTR : Valeur Toxicologique de Référence.

UF : Uncertainty Factor (facteurs d'incertitude, autrement dénommés AF).

US EPA : United States Environmental Protection Agency (Etats Unis).

2. INTRODUCTION

Les valeurs toxicologiques de référence (VTR) sont des indicateurs permettant d'établir une relation qualitative voire quantitative entre une exposition à une substance chimique et un effet néfaste chez l'homme. Il s'agit d'une relation dose-réponse.

En France dans le cadre de la démarche d'évaluation des risques sanitaires, faute de VTR nationales (sauf quelques exceptions), les experts sont confrontés soit au choix de VTR publiées par différentes organisations, soit à l'absence de VTR. Depuis 2006, des groupes d'experts coordonnés par l'AFSSET travaillent à la construction de VTR "nationales". Le rapport du groupe d'experts concernant la construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques a été publié par l'AFSSET en juillet 2007. Un groupe de travail réfléchit actuellement à la construction de VTR pour des effets cancérogènes.

Depuis le début des années 2000, l'INERIS travaille à l'élaboration de méthodes de choix des VTR, à leurs applications mais aussi à l'élaboration de nouvelles valeurs en collaborant, en particulier, aux groupes de travail de l'AFSSET sur les effets reprotoxiques et cancérogènes, qui sont considérés comme des effets "très préoccupants" selon le règlement REACH.

En parallèle, le règlement REACH introduit la notion de DNEL et DMEL, niveaux d'exposition au dessus desquels les humains ne devraient pas être exposés : ce sont des VTR qui vont devoir être élaborées par les industriels, ceux-ci étant avec REACH désignés comme responsables de la gestion des risques liés à l'utilisation de leurs substances chimiques. Il apparaît d'ores et déjà évident que pour une même substance, différentes relations dose-réponse vont pouvoir être établies selon des approches différentes.

La présente étude a ainsi pour objet tout d'abord de présenter la méthodologie d'établissement des DNEL/DMEL décrite dans le règlement REACH puis dans un second temps, de comparer cette méthodologie aux VTR élaborées par les différents organismes reconnus. Cette étude s'appuie sur la réalisation d'études de cas, annexées à ce présent rapport. Dans ce contexte, cette étude vise à identifier les similitudes et/ou divergences des méthodologies VTR vs DNEL/DMEL.

Ce rapport n'a pas vocation à discuter chacune des méthodes mais plutôt à réaliser un état des lieux descriptif, mettant en exergue les points méthodologiques cruciaux dans la construction des VTR et des DNEL/DMEL.

3. REACH ET DNELS

3.1 LE REGLEMENT REACH

Le nouveau règlement européen REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and restrictions on Chemicals), entré en vigueur le 1^{er} juin 2007, a pour objectif principal une meilleure protection de l'homme et pour l'environnement vis-à-vis des produits chimiques. En bref, il s'agit de :

- Protéger la santé humaine et l'environnement, notamment concernant les substances "préoccupantes" (cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques, persistantes, bioaccumulables...);
- Compléter les données sur les dangers des substances et mieux identifier et maîtriser les risques sur la base d'une évaluation des risques tout au long du cycle de vie de la substance ;
- En cas de besoin : restreindre ou interdire leur emploi ;
- Limiter les essais sur les vertébrés et promouvoir des essais alternatifs à l'expérimentation animale.

Ce règlement Reach prévoit quatre actions majeures,

- L'enregistrement de toutes les substances produites ou importées dans l'Union Européenne à plus de 1 tonne par an, avec le dépôt d'un dossier auprès de l'Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA). Le système prévoit une phase de pré-enregistrement de l'ensemble des substances existantes (identifiées par le terme " phase-in " sous REACH) produites ou importées à plus de 1 tonne par an, dans les 12 à 18 mois après l'entrée en vigueur du règlement. Cette phase permet d'obtenir un délai pour l'enregistrement obligatoire de 3, 6 ou 11 ans en fonction du tonnage. L'enregistrement sera d'application directe pour les substances "non phase-in" (substances mises la première fois sur le marché après l'entrée en vigueur de REACH).
- L'évaluation des dossiers par l'Agence (évaluation des propositions d'essais et évaluation de la conformité des dossiers) et l'évaluation des substances par les Autorités Compétentes (ACs) des Etats membres. Les substances soumises à évaluation sont définies en fonction de critères de priorités fixés par l'Agence en lien avec les ACs, et sont listées sur un plan d'action continu.
- L'autorisation des substances dites "préoccupantes" telles que : les cancérogènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction (CMR) ; les substances persistantes bioaccumulables et toxiques (PBT) ; les substances très persistantes et très bioaccumulables (vPvB) ; et toute autre substance, de niveau de préoccupation équivalent, identifiée comme pouvant avoir des effets graves sur la santé humaine et/ou l'environnement, comme par exemple les perturbateurs endocriniens. Les autorisations d'utilisations seront octroyées par la Commission Européenne d'après dossier.
- La restriction, par laquelle la Commission peut interdire certaines utilisations pour lesquelles des risques graves pour la santé ou l'environnement sont identifiés.

Une phase préparatoire a débuté dès 2005, avant l'entrée en vigueur du règlement. Au cours de cette phase préparatoire, différents acteurs (les ACs, des groupes de travail de la Commission Européenne et les parties prenantes de différents projets) ont participé aux projets RIPs (REACH Implementation Project). Les projets sont destinés à la production des guides techniques et des outils IT (système d'information) à l'usage de l'Agence, des Autorités Compétentes et de l'Industrie.

L'INERIS est impliqué dans la mise en œuvre du règlement européen REACH et l'a été, en particulier, dans le groupe sur les besoins en informations toxicologiques (RIP.3.3.). Il a également été impliqué dans le groupe en charge d'établir les « VTR » REACH appelées « DNEL/DMEL » (RIP.3.2.2., aujourd'hui finalisé en guide technique).

Parmi ces projets, le **RIP 3.2** : « guide pour les producteurs, importateurs et utilisateurs en aval » doit permettre aux industriels de réaliser l'évaluation de la sécurité chimique (CSA : Chemical Safety Assessment) qui sera documentée dans un rapport, le CSR (Chemical Safety Report). Le guide intègre les méthodologies d'évaluation des risques pour la santé humaine (travailleurs, consommateurs, homme via l'environnement) (RIP3.2.2, finalisé en guide technique) et l'environnement, une description des scénarios d'exposition et des mesures de réduction des risques associées, ainsi que la façon dont la diffusion de l'information sera faite au niveau de l'industrie notamment via les fiches de données de sécurité (FDS). Ce guide détaille notamment la méthodologie et la procédure à suivre pour évaluer les dangers des substances chimiques vis-à-vis de l'environnement et de la santé humaine exprimés respectivement en terme de concentration prévisible sans effets baptisé PNEC (« Predicted No Effect Concentration ») et de dose dérivée sans effet DNEL (« Derived No Effect Level »).

Le RIP 3.2-2 relatif à l'évaluation des dangers pour la santé humaine et à l'établissement des DNEL a été intégré au " Guidance on information requirements and chemical safety assessment " - chapitre R.8 " Characterisation of dose [concentration]-response for human health ", publié depuis mai 2008.

3.2 DEFINITIONS DES DNEL/DMEL

Pour évaluer les dangers des substances chimiques sur la santé humaine, le règlement REACH introduit la détermination de niveaux d'exposition au dessus desquels les humains ne devraient pas être exposés : les DNEL et DMEL.

La DNEL, dose dérivée sans effet (Derived No Effect Level) correspond à une dose maximale calculée pour laquelle aucun effet néfaste ne devrait apparaître.

La DMEL, dose calculée d'effet minimum (Derived Minimal Effect Level), correspond à une valeur attribuée aux substances dites à effet « sans seuil » de dose (pour les cancérigènes et mutagènes en particulier). Pour ces effets, l'hypothèse sous jacente est qu'aucun niveau sans effet ne peut être établi et par conséquent une DMEL exprime un niveau d'exposition pour lequel on estime que la probabilité de survenue de l'effet est négligeable ou acceptable.

Les DNEL/DMEL représentent le lien entre la quantité de substance à laquelle l'homme est exposé et l'occurrence de l'effet néfaste correspondant. Elles sont établies pour une substance donnée. Elles sont spécifiques d'un effet (local ou systémique), d'une voie, d'une durée et d'une fréquence d'exposition, d'un type de population (travailleurs/ consommateurs/ l'homme via l'environnement/ sous-populations sensibles).

Elles sont exprimées en lien avec un scénario d'exposition, par exemple:

- Worker DNEL long term for inhalation route local → travailleur/ DNEL chronique/ voie respiratoire/ effets locaux

- General population DNEL acute for dermal route systemic → population générale/ DNEL exposition aiguë/ voie cutanée/ effets systémiques

Les DNEL/DMEL peuvent être construites à partir d'études épidémiologiques chez l'homme, d'études expérimentales animales, d'études *in vitro* ou de méthodes alternatives (QSAR, « read across »...).

3.3 CONTEXTE D'ETABLISSEMENT DES DNEL/DMEL

Les DNEL et DMEL font partie intégrante de l'évaluation de la sécurité des substances chimiques (Chemical Safety Assessment ou CSA). Le CSA d'une substance chimique comprend en effet l'évaluation des dangers pour la santé humaine qui a pour objectifs :

- De déterminer la classification de la substance, conformément aux critères de la directive 67/548/CEE ;
- D'établir des DNELs.

Le CSA étant documenté dans le rapport sur la sécurité chimique (CSR), les DNEL et DMEL doivent être établies par le déclarant pour les substances manufacturées, importées ou utilisées à plus de 10 tonnes par an (substances soumises à enregistrement).

Par ailleurs, les DNEL/DMELs sont utilisées pour la caractérisation des risques pour la santé humaine. Cette dernière doit être effectuée par le déclarant pour les substances :

- Manufacturées, importées ou utilisées à plus de 10 tonnes par an (substances soumises à enregistrement)

Et

- Identifiées comme dangereuses pour la santé humaine selon les critères de classification de la directive 67/548/CE (les CMR notamment) ou PBT (persistantes, bioaccumulables et toxiques) ou vPvB (très Persistante ou très Bioaccumulable)

La caractérisation du risque selon REACH consiste en une comparaison entre, d'une part, l'exposition de chaque population humaine dont on sait qu'elle est ou qu'elle sera probablement exposée et, d'autre part, les DNEL pertinentes. Elle s'effectue pour chaque scénario d'exposition.

Niveau d'exposition

$$\text{RCR}^* = \frac{\text{Niveau d'exposition}}{\text{DNEL ou DMEL la plus critique}}$$

* RCR: Risk Characterisation Ratio

La caractérisation du risque, dans le cadre d'un scénario d'exposition défini, doit reposer sur l'effet critique pour la santé identifié pour des conditions d'exposition données (durée, fréquence, voie, population cible). L'effet critique pour la santé est celui associé à la DN(M)EL la plus basse (plus protectrice pour la santé).

En d'autres termes, pour chaque scénario d'exposition, la DNEL la plus appropriée (en termes de conditions d'exposition : durée de l'exposition notamment, population cible)

et la plus protectrice de la santé (si plusieurs DNELs il y a) est retenue pour le calcul du RCR. Une même DNEL peut être retenue pour différents scénarios d'exposition si les conditions d'exposition sont appropriées (population cible, durée d'exposition).

Lorsque le niveau d'exposition estimé est inférieur à la DNEL appropriée (RCR inférieur à 1), le risque pour la population humaine est considéré comme valablement maîtrisé. Dans le cas contraire, le risque est considéré comme réel.

Dans le cas de la DMEL, lorsque ce ratio est inférieur à 1, le risque est considéré comme faible et dans le cas contraire, le risque est évalué comme important.

La DNEL et la DMEL constituent ainsi des indicateurs ou critères de référence pour le contrôle de l'exposition. Elles peuvent être utilisées dans une situation réelle d'exposition. Elles sont utilisées pour la communication : elles sont présentées en annexe de la fiche de données de sécurité (extended SDS), associées aux scénarios d'exposition et aux mesures de gestion des risques.

4. LA METHODOLOGIE D'ETABLISSEMENT DES DNEL/DMEL

4.1 EVALUATION DES DANGERS POUR LA SANTE HUMAINE

L'établissement des DNEL/DMEL s'inscrit dans la démarche d'évaluation des dangers pour la santé humaine qui comprend quatre étapes : évaluation des données non humaines, évaluation des données humaines, classification et étiquetage, établissement des DNELs.

Lors de l'évaluation des dangers pour la santé humaine, sont pris en considération le profil toxicocinétique de la substance (c'est-à-dire absorption, métabolisme, distribution, et élimination) et les groupes d'effets suivants :

- Effets aigus (toxicité aiguë, irritation et corrosivité),
- Sensibilisation,
- Toxicité par administration répétée et
- Effets CMR (cancérogénicité, mutagénicité et toxicité pour la reproduction).

Pour chaque type d'effet, l'évaluation des données doit permettre d'établir des relations dose-réponse et des doses critiques. L'étape 4 d'établissement de DNEL intègre les informations des 3 étapes précédentes et prend ainsi en compte l'ensemble des données toxicologiques, mécanistiques et épidémiologiques disponibles et pertinentes.

4.2 SCHEMA GENERAL DE CONSTRUCTION DES DNEL-DMEL

- **Etape 1. Collecte des doses critiques disponibles (ex. NOAEL, BMD, LD₅₀, LC₅₀, BMD(L)₁₀, OR, RR, ...)**

La revue des différents effets sur la santé humaine, induits par une substance et identifiés lors des trois premières étapes de l'évaluation des dangers, doit permettre de collecter les différentes doses critiques pertinentes. Ces doses peuvent être rassemblées dans un tableau, le guide technique propose un exemple de tableau dans l'appendice 1.

Si plusieurs études font état du même effet (adéquates, de même qualité,...), c'est celle qui suscite la plus forte préoccupation qui est utilisée pour établir la DNEL (étude clé). Dans le cas contraire, le choix doit être justifié. Le choix de l'étude clé et de la dose critique, donc l'établissement de la DNEL/DMEL, dépendent ainsi du jugement d'expert.

Si plusieurs études et par conséquent plusieurs doses critiques sont disponibles pour des effets différents (à seuil ou sans seuil de dose) ou pour des voies d'exposition différentes, il est pertinent d'établir une DNEL ou DMEL pour chacun de ces effets et pour chaque voie d'exposition.

- **Etape 2. Détermination du mode d'action de la substance : à seuil ou sans seuil de dose.**

Avant d'établir une DNEL ou une DMEL, il est nécessaire de déterminer si la substance induit un effet critique selon un mode d'action à seuil ou sans seuil de dose, car ce mode d'action permet de choisir le scénario de construction de la relation dose-réponse.

Une DNEL est établie pour les effets qui surviennent au delà d'un seuil de dose (principalement les effets non cancérogènes).

Une DMEL est élaborée pour les effets qui se manifestent quelque soit la dose (sans seuil de dose), représentés actuellement par les effets cancérogènes - génotoxiques. En principe pour ces effets, tout niveau d'exposition constitue un risque et aucune dose sans effet ne peut être déterminée.

Une substance cancérogène génotoxique peut à la fois induire des effets sans seuil de dose et des effets différents à seuil de dose. Pour une même substance, des DNEL et des DMEL peuvent donc coexister (figure R.8.1.).

Quand aucune dose critique n'est disponible et en conséquence aucune DMEL/DNEL ne peut être établie pour un effet, une approche qualitative ou semi quantitative doit être menée.

- **Etape 3.** En fonction du mode d'action, établissement d'une DNEL pour un effet à seuil (étape 3.1) ou bien d'une DMEL pour les effets sans seuil de dose (étape 3.2).

Cette étape d'établissement des DNEL ou DMEL sera développée dans les paragraphes suivants.

- **Etape 4.** Sélection de l'effet critique principal et de la DNEL, DMEL ou autre description qualitative ou semi-quantitative correspondante.

4.3 ETABLISSEMENT DE LA DNEL

Une DNEL est élaborée pour les effets à seuil de dose. L'établissement de la DNEL à proprement parler comporte plusieurs étapes :

- La sélection de la dose critique pertinente pour un effet donné, en lien avec l'organe cible,
- La modification si besoin, de cette dose critique pour l'effet considéré en une dose critique corrigée (" point de départ corrigé "),
- L'application, si besoin, de facteurs d'incertitude pour obtenir la DNEL spécifique de l'effet pour le type d'exposition pertinent (durée, fréquence, et population humaine exposée)

4.3.1 ETAPE A : SELECTION DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE

Pour les effets à seuil de dose, une dose critique est déterminée à partir des données observées au cours d'études épidémiologiques ou expérimentales. Concernant les études chez l'animal, la dose critique correspond à la dose expérimentale administrée n'induisant pas, statistiquement, d'augmentation d'occurrence de l'effet critique parmi les animaux exposés par rapport aux animaux non exposés.

Pour chaque effet à seuil pour la santé humaine, une ou plusieurs doses critiques peuvent être disponibles. Dans le cas des études de toxicité par administration répétée, et selon les données disponibles, la dose critique peut notamment être un NOAEL, un LOAEL ou une benchmark dose.

Lorsque plusieurs doses critiques pertinentes sont disponibles, les étapes b et c doivent être appliquées à chacune de ces doses.

4.3.2 ETAPE B : MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

4.3.2.1 OBJECTIF

Cette étape d'ajustement de la dose critique consiste à déterminer une dose critique corrigée ("point de départ") pour l'extrapolation et a lieu notamment :

- Lorsqu'il y a des différences de biodisponibilité entre les humains et les animaux, soit, en pratique, des différences d'absorption ;
- Si pour une voie d'exposition humaine donnée, il n'y a pas de dose critique correspondante à cette voie d'exposition. Une extrapolation voie à voie peut alors être réalisée dans certaines circonstances ;
- Lorsqu'il existe des différences dans les conditions d'exposition (entre l'étude expérimentale et la population cible) ;
- Pour prendre en compte les différences de volumes respiratoires entre les animaux (au repos) et les humains (en activité) ;

Cette étape n'est généralement pas nécessaire lorsque la dose critique est issue de données humaines.

4.3.2.2 CALCUL DE LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE

La dose critique est corrigée en la multipliant par les différents facteurs d'ajustement.

$$\text{Dose critique corrigée} = \text{dose critique} \times \text{facteurs d'ajustement}$$

4.3.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Il est par défaut considéré que la biodisponibilité est la même chez l'animal et chez l'homme pour une voie d'exposition donnée. Cependant, lorsque des informations indiquent qu'à un niveau d'exposition donné, l'homme absorbe différemment la substance que l'animal, la dose critique doit être corrigée pour tenir compte de cette différence de biodisponibilité.

En pratique, les différences de biodisponibilité sont à déterminer en évaluant les différences d'absorption. Le TGD ne précise pas quels paramètres utiliser pour prendre en compte ces différences d'absorption. Pour une exposition par inhalation, la dose critique sera ajustée en tenant compte des coefficients de partage entre l'air et le sang, paramètre influençant l'absorption des substances.

4.3.2.2.2 L'EXTRAPOLATION - TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Si les données expérimentales ne sont pas disponibles pour la voie d'exposition de la population cible, une extrapolation voie à voie peut être une alternative, pour les effets systémiques uniquement.

Elle ne s'applique pas aux effets locaux (par exemple, irritation pulmonaire suite à l'inhalation de substances). Toutefois, même pour les effets systémiques, l'extrapolation voie à voie n'est pas toujours appropriée : le TGD cite pour exemple

l'effet de premier passage hépatique sans plus de précision et oriente l'utilisateur vers le guide de l'IGHRC (2006). Ce dernier précise qu'il faut éviter les situations pour lesquelles l'extrapolation voie à voie peut sous-estimer la toxicité pour la voie d'exposition envisagée chez l'homme. Ainsi, si les données disponibles concerne des substances dont la toxicité est liée à la molécule mère mais qui sont métabolisées au site de contact l'extrapolation voie à voie n'est pas appropriée. En prenant l'exemple de la voie orale, si la substance subit un effet de premier passage hépatique important (métabolisation rapide par le foie), l'extrapolation voie à voie n'est pas non plus appropriée car l'approche n'est pas conservatrice. En l'absence de d'indication pour de telles préoccupations, il est alors possible de supposer que l'extrapolation voie à voie peut être effectuée.

Il est important de souligner que l'extrapolation voie à voie est associée à un fort degré d'incertitude et qu'elle doit être menée avec précaution par un expert.

Lorsque cette transposition est réalisable, des ajustements doivent être apportés pour les différences de cinétique et de métabolisme. Etant donné qu'il est généralement difficile de quantifier les différences de métabolisme, d'excrétion et de distribution, dans la pratique, seules les différences déterminées par le pourcentage d'absorption dans la circulation systémique sont prises en compte.

En l'absence d'information sur l'absorption, des hypothèses "pire cas" sont proposées, qui consistent à supposer que l'absorption de la voie de départ à l'extrapolation est limitée (la dose interne est donc basse) et l'absorption de la voie finale à l'extrapolation est élevée, afin d'obtenir un NOAEL (extrapolé) conservateur. Ainsi, dans le cas d'une extrapolation de la voie orale à l'inhalation, le pourcentage d'absorption pour la voie orale est considérée à 50% tandis que celui par inhalation est de 100%. En conséquence, un facteur 2 est à appliquer à la dose critique pour l'extrapolation de la voie orale à celle de l'inhalation. Le TGD, en annexe 3, présente l'exemple de conversion d'un NOAEL oral chez le rat en une NOAEC corrigée par inhalation chez l'homme, dans le cas où la population cible est la population générale (exposition 24h par jour).

$$N(L)OAEC_{\text{corrigée inhalation}} = N(L)OAEC_{\text{oral}} \times \frac{1}{sRV_{\text{rat}}} \times \frac{ABS_{\text{oral-rat}}}{ABS_{\text{inh-rat}}} \times \frac{ABS_{\text{inh-rat}}}{ABS_{\text{inh-hum}}}$$

$$N(L)OAEC_{\text{corrigée inhalation}} = N(L)OAEC_{\text{oral}} \times \frac{1}{1,15m^3/kg/j} \times \frac{ABS_{\text{oral-rat}}}{ABS_{\text{inh-hum}}}$$

$$N(L)OAEC_{\text{corrigée inhalation}} = N(L)OAEC_{\text{oral}} \times \frac{1}{1,15m^3/kg/j} \times \frac{1}{2}$$

avec : sRV : standard respiratory volume

ABS : absorption

Dans le cas inverse, extrapolation de la voie de l'inhalation à la voie orale, un facteur de 1 par défaut est appliqué car considérer une absorption voie orale deux fois supérieure à celle de la voie de l'inhalation n'apparaît pas justifié, d'après l'expérience. De même, l'absorption par voie cutanée n'est pas envisagée comme supérieure à l'absorption voie orale, aussi un facteur 1 est à appliquer pour une extrapolation de la voie orale à la voie cutanée.

Le TGD recommande que les autres situations d'extrapolation voie à voie moins fréquente (par exemple, de l'inhalation à la voie cutanée et inversement) soient manipulées au cas par cas. Le TGD oriente l'utilisateur vers le guide de l'IGHRC (2006),

lequel précise que pour l'extrapolation de la voie orale à cutanée, il est recommandé d'avoir des données sur la pénétration dermale de la substance étudiée.

La tableau ci-dessous résume les facteurs par défaut à appliquer à la dose critique pour l'extrapolation.

Tableau 1 : Facteurs par défaut à appliquer à la dose critique pour une extrapolation voie à voie

Orale à inhalation	2
Inhalation à orale	1
Orale à cutanée	1
Inhalation à cutanée (et vice versa)	Au cas par cas

4.3.2.2.3 L'AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Le temps d'exposition dans le cadre des études expérimentales peut être différent de la durée réelle d'exposition de la population humaine : population générale, travailleurs ou consommateurs. Par exemple dans les études par inhalation à dose répétée, l'exposition est en général de 6 heures par jour alors que celle des travailleurs est estimée à 8 heures par jour, celle de la population via l'environnement à 24 heures par jour et celle des consommateurs de 1 à 24 heures par jour selon le scénario d'exposition.

Par conséquent, un ajustement des données toxicologiques dans le temps doit être réalisé selon le scénario d'exposition et la population considérée. La loi de Haber est proposée comme approche la plus appropriée pour l'ajustement dans le temps :

$$k = C^n \times t$$

où C est la concentration, n un coefficient de régression, t le temps d'exposition, et k une constante en terme d'impact toxique.

Cet ajustement ne doit être réalisé que lorsque l'effet toxique est induit par la dose totale (cumulée) ou s'il dépend à la fois de la dose cumulée et de la concentration d'exposition. Il est inadapté lorsque l'effet toxique est dépendant prioritairement de la concentration d'exposition (cas de l'irritation). Par ailleurs, les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition, l'ajustement sur les conditions d'exposition n'est donc pas approprié pour l'établissement de DNELs pour les effets sur le développement.

Le TGD propose comme exemple un NOAEC issu d'une étude par inhalation chez le rat exposé 6 heures par jour. La dose critique doit être corrigée en fonction de la durée d'exposition de la population cible (Cf. tableau 2). Dans cet exemple, le facteur est de 0,75 (=6/8) pour une population de travailleurs, par un facteur de 0,25 (6/24) pour la population générale exposée via l'environnement.

Tableau 2 : Temps d'exposition des populations cibles à considérer pour l'ajustement des données expérimentales

Travailleurs	8h/jour
Population générale via l'environnement	24h/jour
Consommateur	1 à 24h/jour selon le scénario d'exposition

Il convient de préciser que, même en l'absence d'information précise du TGD à ce sujet, si l'exposition n'a été effectuée que 5 jours par semaine, pour la population générale exposée via l'environnement, le facteur est de 0,18 ($6/24 \cdot 5/7$). Pour une population de travailleurs, le facteur reste à 0,75.

4.3.2.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES.

La procédure d'extrapolation de l'animal à l'homme repose sur l'hypothèse qu'il existe des différences de sensibilité entre les espèces et qu'il convient de les prendre en compte. Un facteur d'extrapolation inter-espèces est donc appliqué à l'étape c des DNELs (Cf § 4.3.3.1). Celui-ci se décompose en un facteur d'ajustement allométrique (facteur AS) et un facteur pour les incertitudes résiduelles.

Dans le cas de l'inhalation, le facteur AS ne doit pas s'appliquer. En effet, d'après le TGD, l'ajustement allométrique doit être pris en compte ici, à l'étape b d'établissement des DNEL. La dose critique (concentration inhalée) doit être ajustée sur la base des volumes respiratoires (lié au taux respiratoire). Les taux respiratoire dépendent en effet de la demande calorique et l'ajustement sur le taux métabolique est équivalent à l'ajustement allométrique. Le TGD souligne que les volumes respiratoires entre le rat et l'homme diffèrent d'un facteur 4, lequel est équivalent au facteur d'ajustement allométrique AS. Toutefois, seuls les volumes respiratoires chez le rat sont indiqués dans le TGD (Cf. tableau 3 ci-après) et les exemples d'ajustement de la dose critique (Cf. § 4.3.2.1) ne précisent pas comment utiliser les volumes respiratoires¹.

Par ailleurs, le facteur d'ajustement allométrique ne tient pas compte de la variation de volume respiratoire liée à l'activité physique. Dans le cadre des expériences en laboratoire, les animaux sont en conditions de repos, aussi les résultats sont-ils extrapolables à l'homme pour une personne au repos (population générale). Dans le cas des travailleurs, la dose critique doit être ajustée par rapport aux différences de volume respiratoire liées à l'activité physique. Le volume respiratoire est estimé à 6,7 m³/personne pour une période de 8h au repos et à 10 m³/personne sur 8h pour un travailleur ayant une activité modérée. Dans le cas des travailleurs, la dose critique doit donc être corrigée d'un facteur 0,67 (=6,7/10).

Le tableau 3 ci-dessous reprend les valeurs par défaut des volumes respiratoires physiologiques pour le rat et pour l'homme donnés dans le TGD.

¹ Alors qu'il ne donne les volumes respiratoires que pour le rat, le TGD fournit différentes valeurs par défaut du facteur d'ajustement allométrique en fonction de l'espèce étudiée (cf § 4.3.3.1). Dans les études de cas qui ne concernent pas le rat, il sera par défaut appliqué le facteur AS pour prendre en compte l'ajustement allométrique.

Tableau 3 : Paramètres physiologiques par défaut selon le principe de l'ajustement allométrique

	Rat	Homme
Poids corporel	250 g	70 kg
Volume respiratoire (standard; sRV)	0.2 l/min/rat = ajustement 0.8 l/min/kg pc	allométrique ^a 0.2 l/min/kg pc
↓	↓	↓
Pour une durée pertinente: 6 h exposition 8 h exposition 24 h exposition	0.29 m ³ /kg pc 0.38 m ³ /kg pc 1.15 m ³ /kg pc	5 m ³ /personne 6,7 m ³ /personne 20 m ³ /personne
Volume respiratoire pour un travailleur avec une faible activité (wRV) 8 h exposition		10 m ³ /personne

a. La différence entre le taux métabolique ajusté et le poids corporel ajusté pour les rats et les humains est de 4 (cf. tableau 3-3)

4.3.2.3 EXEMPLES D'AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

Les exemples ci-après sont repris tels qu'ils sont présentés dans le TGD.

Exemple 1 (Ajustement sur les conditions d'exposition) : conversion d'une N(L)OAEC chez le rat par inhalation en une N(L)OAEC corrigée par inhalation en cas de différences entre les conditions d'exposition expérimentales et humaines.

$$N(L)OAEC_{\text{corrigée}} = N(L)OAEC_{\text{inhalation}} \times \frac{\text{cond.exp.}_{\text{rat}}}{\text{cond. exp.}_{\text{homme}}}$$

- Pour la population générale exposée pendant 24h/ jour

$$N(L)OAEC_{\text{corrigée}} = N(L)OAEC_{\text{inhalation}} \times \frac{6 \text{ h/j}}{24 \text{ h/j}}$$

- Pour des travailleurs exposés pendant 8h/ jour, l'ajustement sur les volumes respiratoires doit aussi être effectué (cet ajustement doit toujours être effectué).

$$N(L)OAEC_{\text{corrigée}} = N(L)OAEC_{\text{inhalation}} \times \frac{6 \text{ h/d}}{8 \text{ h/d}} \times \frac{6.7 \text{ m}^3(8\text{h})}{10 \text{ m}^3(8\text{h})}$$

Exemple 2 (Extrapolation orale à inhalation) : conversion d'un N(L)OAEL oral chez le rat en une N(L)OAEC corrigée par inhalation pour évaluer l'exposition par inhalation humaine (extrapolation orale à inhalation)

- Pour la population générale exposée pendant 24h/ jour

$$N(L)OAEC_{\text{inhalation corrigé}} = N(L)OAEL_{\text{oral}} \times \frac{1}{SRV_{\text{rat}}} \times \frac{ABS_{\text{oral-rat}}}{ABS_{\text{inh-rat}}} \times \frac{ABS_{\text{inh-rat}}}{ABS_{\text{inh-homme}}}$$

$$N(L)OAEC_{\text{inhalation corrigé}} = N(L)OAEL_{\text{oral}} \times \frac{1}{1,15 \text{ m}^3/\text{kg}/\text{j}} \times \frac{ABS_{\text{oral-rat}}}{ABS_{\text{inh-homme}}}$$

- Pour des travailleurs exposés pendant 8h/ jour

$$N(L)OAEC_{\text{inhalation corrigé}} = N(L)OAEL_{\text{oral}} \times \frac{1}{sRV_{\text{rat}}} \times \frac{ABS_{\text{oral-rat}}}{ABS_{\text{inh-homme}}} \times \frac{sRV_{\text{homme}}}{wRV}$$

$$N(L)OAEC_{\text{inhalation corrigé}} = N(L)OAEL_{\text{oral}} \times \frac{1}{0,38 \text{ m}^3/\text{kg}/\text{j}} \times \frac{ABS_{\text{oral-rat}}}{ABS_{\text{inh-homme}}} \times \frac{6,7 \text{ m}^3 (8\text{h})}{10 \text{ m}^3 (8\text{h})}$$

Les exemples ci-dessus repris du TGD ne donne pas de précisions quant à la manière de prendre en compte l'ajustement sur les volumes respiratoires ni ce qu'il est considéré comme l'absorption.

4.3.3 ETAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR LA VOIE D'EXPOSITION PERTINENTE

On distingue cinq facteurs d'incertitude liés à :

- Les différences inter espèces
- La variabilité inter individuelle
- La durée d'exposition
- La relation dose-réponse (type de dose critique retenue)
- A la qualité des données

Des facteurs par défaut sont déterminés mais des informations spécifiques à la substance peuvent permettre à chacune des valeurs des AF de pouvoir être ajustées.

4.3.3.1 FACTEUR D'INCERTITUDES LIE AUX VARIATIONS INTER-ESPECES

La procédure d'extrapolation de l'animal à l'homme repose sur 3 hypothèses :

- Les résultats obtenus dans les expérimentations animales sont en rapport avec ceux qui pourraient être obtenus chez l'homme ;
- Il existe des différences de sensibilité entre l'animal et l'homme ;

- Les hommes sont plus sensibles à la toxicité d'une substance que les animaux pour une dose donnée en mg/kg pc/jour.

Un facteur d'extrapolation inter-espèces est donc appliqué à la dose critique obtenue chez l'animal afin de prendre en compte les variations de sensibilité entre les 2 espèces.

Ces variations sont attribuées à des différences de toxicocinétique et toxicodynamie. Certaines différences toxicocinétiques peuvent s'expliquer par des différences de taille et être associées à des différences de taux métabolique basal. La procédure d'extrapolation standard, consiste donc à corriger ces différences de "taux métabolique" entre les espèces (ajustement allométrique), puis à appliquer un facteur supplémentaire de 2,5 pour les autres différences inter espèces telles que les différences toxicodynamiques et toxicocinétiques non liées au taux métabolique.

Cette procédure est appliquée par défaut d'information spécifique d'une substance. Si des données spécifiques à la substance montrent l'existence de différences de susceptibilité particulière entre les deux espèces non liées aux taux métaboliques, le facteur supplémentaire de 2,5 pour les différences résiduelles doit être modifié en conséquence.

Il va de soi que lorsque des données humaines sont utilisées comme "point de départ", aucune extrapolation et aucun AF n'est nécessaire pour les différences inter espèces.

Définition de l'ajustement allométrique

L'ajustement allométrique est une approche empirique pour l'extrapolation inter espèces des doses. Il consiste à ajuster les doses administrées par rapport au poids corporel (pc). Cela sous-entend que les différentes espèces auraient la même sensibilité à une dose donnée par unité de poids corporel. Cet ajustement se traduit par l'application d'un facteur d'ajustement allométrique AS (Allometric Scaling) calculé à partir de la formule suivante :

$$\frac{pc_{\text{homme}}}{pc_{\text{animal}}} \left(\frac{pc_{\text{homme}}}{pc_{\text{animal}}} \right)^{0.75} = \left(\frac{pc_{\text{homme}}}{pc_{\text{animal}}} \right)^{1.75}$$

Cet ajustement repose sur l'hypothèse que les effets toxiques dépendent du taux métabolique, celui-ci ayant un impact sur les procédés physiologiques tels que le flux sanguin, l'irrigation du foie et des reins, lesquels ont un impact sur l'élimination des substances.

On obtient ainsi différents facteurs d'ajustement allométrique (facteur AS) par défaut pour chaque espèce animale comparée à l'homme qui sont présentés dans le tableau R.8.3 du TGD et repris dans le tableau ci-dessous.

*Tableau 4 : Facteurs d'ajustement allométrique
pour différentes espèces par rapport à l'homme^a*

Espèces	Poids corporel (kg)	Facteur AS ^b
Rat	0.250	4
Souris	0.03	7
Hamster	0.11	5
Cobaye	0.8	3
Lapin	2	2.4
Singe	4	2
Chien	18	1.4

a. en supposant que le poids corporel humain est de 70 kg

b. ne s'applique pas quand une DNEL inhalation est dérivée à partir d'une étude animale par inhalation (cf. appendice II)

L'ajustement allométrique et donc le facteur AS ne s'applique pas d'une manière générale :

- Pour des effets locaux (ils sont indépendants du taux métabolique ou de l'absorption systémique, facteur AS=1)
- Pour les effets létaux aigus puisque ces effets peuvent être indépendants des besoins énergétiques et des processus physiologiques influençant la toxicité ;

Le facteur AS ne s'applique pas à l'étape c d'établissement des DNEL :

- Lors de transposition voie à voie, l'ajustement allométrique étant pris en compte lors de la conversion de la dose de l'étape b (le facteur AS devra être intégré dans l'étape c de l'établissement de la DNEL s'il n'a pas été déjà implicitement pris en compte dans l'étape b).
- Pour la voie respiratoire, les doses critiques étant considérées comme déjà ajustées selon le principe allométrique².

Il n'est pas pertinent non plus d'utiliser le principe allométrique lorsque les substances concernées :

- Ne sont que peu éliminées rénalement (l'excrétion biliaire et la glucuroconjugaison ont été montrées comme indépendantes du taux métabolique)
- Sont rapidement métabolisées (toxicité liée au(x) métabolite(s))

Le tableau R.8.4 du TGD (repris dans le tableau 5 ci-dessous) illustre les situations où le facteur AS doit être appliqué à l'étape c de l'établissement de la DNEL

² Pour l'inhalation, l'interprétation qui a été faite du TGD est de prendre en compte l'ajustement allométrique sur la base des volumes respiratoires, c'est-à-dire à l'étape b d'établissement des DNEL. Le TGD ne donne que les volumes respiratoires chez le rat. Si l'ajustement sur les volumes respiratoires n'est pas effectué (étude chez le lapin ou la souris), l'ajustement allométrique doit s'effectuer à l'étape c (application du facteur AS).

Tableau 5 : Situations où le facteur d'ajustement allométrique AS s'applique au niveau de l'étape c

Voie d'exposition humaine (unité)	Voie d'exposition des animaux d'expérimentation (unité)	Application du facteur AS ?
Oral (mg/kg pc/jour)	Oral (mg/kg pc/jour)	Oui
	Cutané (mg/kg pc/jour)	Oui
	Inhalation (mg/m ³)	Oui
Cutané (mg/kg pc/j)	Oral (mg/kg pc/jour)	Oui
	Cutané (mg/kg pc/jour)	Oui
	Inhalation (mg/m ³)	Oui
Inhalation (mg/m ³)	Oral (mg/kg pc/ jour)	Non
	Cutané (mg/kg pc/ jour)	Non
	Inhalation (mg/m ³)	Non

Pour les effets locaux :

Ces effets étant indépendants du taux métabolique de base, le facteur AS ne doit pas être appliqué (Facteur AS = 1). Pour les incertitudes restantes liées aux différences inter espèces (relatives à la toxicocinétique et la toxicodynamie), la prise en compte du mécanisme de toxicité est cruciale, par exemple, si l'effet correspond à une destruction des membranes ou s'il a un impact direct sur le métabolisme local.

Pour les effets sur les yeux, la peau ou le tractus gastrointestinal, le facteur pour les incertitudes résiduelles est de 1 dans le cas d'une action directe par réactivité chimique. Si le métabolisme est mis en jeu, alors, comme dans le cas des effets systémiques, le facteur d'incertitudes résiduelles est de 2,5.

Pour les effets sur le système respiratoire, le facteur à appliquer est de 2,5 même si la toxicité est liée à une destruction des membranes. En effet, il est considéré prudent de supposer que l'homme est plus sensible que l'animal compte tenu des différences dans les physiologies respiratoires : débits d'air, déposition, clairance.

4.3.3.2 FACTEURS D'INCERTITUDE LIE A LA VARIABILITE INTER INDIVIDUELLE

Ce facteur repose sur l'hypothèse qu'il existe des sous-groupes de population humaine qui sont plus sensibles à la toxicité d'une substance que la population moyenne et que cette variabilité n'a pas été détectée dans les études en raison d'échantillons de petite taille. Il considère également que ces variations sont plus importantes au sein de la population humaine que chez des animaux de laboratoire. Il permet de tenir compte :

- De facteurs biologiques tels que le polymorphisme génétique, l'âge, l'état de santé, le sexe, le statut nutritionnel ;
- Du type de population plus ou moins sensible (enfants, personnes âgées, femmes enceintes, etc.).

Pour les effets systémiques :

Afin de couvrir les populations les plus sensibles, un facteur d'incertitude par défaut d'une valeur de 10 est généralement appliqué. Ce facteur semble être suffisant pour protéger la majorité de la population (incluant les enfants et les personnes âgées notamment).

Pour les travailleurs, un facteur par défaut d'une valeur de 5 est utilisé. Cette valeur a été déterminée sur le principe que cette sous-population ne comprend pas de sous-populations sensibles telles que les sujets très jeunes, âgés ou très malades.

Pour les effets locaux :

Les facteurs d'incertitude liés à la variabilité inter individuelle pour ces effets sont les mêmes que ceux proposés pour les effets systémiques.

Si des informations pertinentes et spécifiques à une substance sur cette variation intra espèces sont disponibles, elles peuvent être utilisées pour ajuster ou substituer un facteur par défaut. Le document de l'OMS sur les Chemical Specific Adjusted Factors (WHO, 2005) est cité comme exemple pour l'ajustement du facteur³.

L'utilisation d'un facteur plus élevé pour tenir compte de la susceptibilité des enfants peut être justifié lorsque des indices (données épidémiologiques, *in vitro*,...) suggèrent la possibilité que des organes particulièrement vulnérables lors du développement soient cibles de toxicité et qu'il manque de données chez l'animal mettant en évidence de tels effets.

Tableau 6 : Facteurs d'incertitude par défaut pour les différences intra espèces

Facteurs d'incertitude liés aux différences intra espèces	Valeur par défaut effets systémiques	Valeur par défaut effets locaux
Travailleur	5	5
Population générale	10	10

4.3.3.3 FACTEUR D'INCERTITUDE LIE A UNE TRANSPOSITION DE DUREE D'EXPOSITION

Si une étude de toxicité chronique acceptable est disponible, celle-ci sera de préférence retenue comme étude clé et aucun facteur d'incertitude pour l'extrapolation de durée ne sera nécessaire.

Lorsque la dose critique utilisée a été déterminée à partir d'une étude sub-chronique ou sub-aiguë et que la DNEL s'applique pour des expositions sub-chroniques ou chroniques, alors des facteurs par défaut devront être appliqués (tableau R8.5., repris dans le tableau 7 ci-après).

³ Document utilisé pour l'étude de cas sur le bore, voir annexe, chapitre 3.

Tableau 7 : Facteurs d'incertitude liés à une transposition de durée d'exposition

Durée	Facteur d'incertitude par défaut
sub-chronique à chronique	2
Sub-aiguë à chronique	6
Sub-aiguë à sub-chronique	3

'sub-chronique' désigne habituellement une étude de 90 jours

'sub-aiguë' désigne habituellement une étude de 28 jours

'chronique' désigne habituellement une étude de 1,5 - 2 années (pour rongeurs)

L'application de ce facteur suppose qu'un effet observé lors d'expositions sub-chroniques ou sub-aiguës sera également observé pour des expositions chroniques et à plus faible dose.

Il peut être utilisé pour les effets systémiques ainsi que pour les effets locaux sur le tractus respiratoire (Kalberlah *et al.*, 2002).

Dans le cas où des informations spécifiques à une substance sont disponibles, il est préférable de les utiliser pour modifier la valeur de ce facteur par défaut (l'augmenter ou la diminuer) :

- Un facteur plus faible (minimum 1) peut être appliqué si les effets adverses sont indépendants de la durée d'exposition, (cas de certains effets locaux dépendant de la concentration plutôt que de la dose).
- Un facteur plus faible ou plus élevé peut être appliqué s'il y a des indications d'éventuels effets chroniques sévères qui ne peuvent être détectés dans une étude à court terme (exemple : données de QSAR) ou bien des indications sur un potentiel d'accumulation de la substance chimique (ex. substances lipophiles).

4.3.3.4 FACTEURS D'INCERTITUDE LIÉS À LA RELATION DOSE - RÉPONSE OU LIÉS À LA DOSE CRITIQUE

Ce facteur est utilisé pour prendre en compte les incertitudes liées à la dose critique retenue (NOAEL, LOAEL, Benchmark dose ...), dose expérimentale observée supposée représenter le seuil biologique d'effet (niveau de dose sans effet adverse ou NAEL) ainsi que l'incertitude liée à l'extrapolation du LOAEL en un NAEL (si seul un LOAEL est disponible).

Le facteur s'applique essentiellement pour l'extrapolation depuis un LOAEL ou une BMD, en précisant que l'approche BMD, dans la mesure du possible, est préférée à l'extrapolation depuis un LOAEL.

L'application du facteur d'incertitude doit tenir compte de la relation dose-réponse : espacement des doses, la forme et la pente de la courbe de relation dose-réponse, la sévérité de l'effet observé.

- La valeur du facteur suggérée lorsque la DNEL est construite à partir d'un LOAEL est comprise entre 3 et 10, l'application de la valeur 10 devant rester exceptionnelle.
- Une BMD₅ (limite inférieure de l'intervalle de confiance d'une dose qui produit une réponse de 5%) est considérée comme comparable à un NOAEL et le facteur utilisé est ainsi égal à 1.

- Si d'autres indicateurs (tels qu'une BMD₁₀) sont utilisés, le facteur à appliquer doit être considéré au cas par cas.

Lorsque la DNEL est établie à partir d'un NOAEL, le facteur par défaut à appliquer est égal à 1. Cependant, un AF différent peut être appliqué dans certaines situations (incertitude sur l'élaboration du NOAEL, cas exceptionnels d'effets sérieux à un niveau de dose légèrement plus élevé que le NOAEL, étude de faible qualité...). Il devra être déterminé au cas par cas selon le jugement d'experts, en tenant compte bien sûr des informations sur la relation dose-réponse citées ci-dessus.

4.3.3.5 FACTEURS D'INCERTITUDE LIES A LA QUALITE DES DONNEES

Un facteur d'incertitude lié à la qualité de l'ensemble des données peut, si c'est justifié, être appliqué pour compenser les incertitudes restantes dans la DNEL établie.

Ce facteur tient compte de la connaissance du profil toxicologique de la substance. Il est ainsi à corréliser avec le degré de connaissance requis par REACH en fonction du tonnage de la substance ; ainsi, il faut considérer si les critères requis par REACH sont remplis ou s'il manque des données (pour un ou des effets donnés).

Dans un deuxième temps, le facteur prend en compte la confiance et la cohérence des différents effets et études ainsi que la qualité de l'étude retenue pour l'établissement de la DNEL. Il se base sur les données liées au protocole, à la pente de la courbe de relation dose-réponse, à la puissance statistique et à la plausibilité biologique (pertinence). A ce niveau, il convient de prêter attention à ne pas faire de doublon avec un éventuel facteur pour la relation dose-réponse qui prendrait déjà en compte ces incertitudes.

Par défaut, l'AF appliqué pour des données de qualité standard, prenant en compte la complétude, la cohérence et répondant aux critères scientifiques standard est de 1. Un facteur d'incertitude lié à la qualité des données plus important peut être appliqué et justifié au cas par cas. Le TGD ne fournit pas d'exemple précis sur ce qui est une bonne étude ou des données de bonne qualité. Pour plus d'informations, le lecteur doit se reporter au guide sur l'évaluation des informations disponibles : "Guidance on information requirements and chemical safety assessment, Chapter R.4: Evaluation of available information" (ECHA, 2008b), lequel fait notamment référence aux critères de Klimisch (1997) pour la validité d'une étude. Par ailleurs, le TGD souligne que l'utilisation de données alternatives (*in vitro*, (Q)SAR, approches par catégorie), bien que stimulée par REACH, peut être associée à une incertitude supplémentaire dans la dose critique établie et que cela doit être pris en compte ; là aussi il convient de se référer au guide sur l'évaluation des données disponibles ainsi que celui sur l'utilisation des données alternatives "Guidance on information requirements and chemical safety assessment, Chapter R.6: QSARs and grouping of chemicals" (ECHA, 2008c).

4.3.3.6 SYNTHÈSE DES VALEURS NUMÉRIQUES DES FACTEURS D'INCERTITUDE PAR DÉFAUT

Le tableau R.8.6. du TGD, repris ci-après, présente les différentes valeurs numériques des facteurs d'incertitude à appliquer par défaut lors de l'établissement des DNEL.

Tableau 8 : Facteurs d'incertitude à appliquer par défaut lors de l'établissement des DNEL

Facteurs d'incertitudes prenant en compte les différences:		Valeur par défaut effets systémiques	Valeur par défaut effets locaux
Inter espèces	Correction pour les différences de taux métabolique par poids corporel	AS ^{a, b}	-
	Différences résiduelles	2.5	1 ^f 2.5 ^g
Intra espèces	Travailleur	5	5
	Population générale	10 ^c	10 ^c
Durée d'exposition	Sub-aiguë à sub-chronique	3	3 ^h
	Sub-chronique à chronique	2	2 ^h
	Sub-aiguë à chronique	6	6 ^h
Dose-réponse	Problèmes liés à la fiabilité de la relation dose -réponse, à l'extrapolation LOAEL/NAEL et la sévérité de l'effet	1 ^d	1 ^d
Qualité des données	Problèmes liés à la complétude et à la consistance des données disponibles	1 ^d	1 ^d
	Problèmes liés à la fiabilité des données alternatives	1 ^e	1 ^e

^a AS = facteur d'ajustement allométrique (see Tableau 3-3)

^b Des précautions doivent être prises quand la dose critique (ou le point de départ) est issue d'une étude par inhalation ou ingestion)

^c Ne recouvre pas toujours la sous population des très jeunes enfants (cf. texte relatif à la élaboration par défaut)

^d cf. texte relatif à l'élaboration par défaut

^e à fournir par les endpoint work groups EWGs

^f pour les effets sur la peau, les yeux et le tractus gastro intestinal via une simple destruction des membranes

^g pour les effets sur la peau, les yeux et le tractus gastro intestinal via le métabolisme local; pour les effets sur le tractus respiratoire

^h pour les effets sur le tractus respiratoire.

4.3.4 UTILISATION DU MODELE PBPK POUR ETABLIR LES FACTEURS D'INCERTITUDES

Les modèles physiologiques toxicocinétiques (PBPK pour Physiologically-Based Pharmacokinetic) permettent de décrire la biodistribution d'une substance (c'est-à-dire, son administration, distribution, métabolisme, et excrétion) au sein d'un organisme. La principale application de ces modèles est de prédire la dose atteignant le tissu cible (substance ou métabolite). Ils permettent également de transposer à l'homme les résultats obtenus chez l'animal d'une façon plus scientifique par réduction des incertitudes liées aux approches d'extrapolation par défaut.

Dans le cadre de l'établissement des DNEL, les données issues d'un modèle PBPK peuvent être utilisées pour ajuster les différences inter et intra-espèces ainsi que celles liées à l'extrapolation voie à voie. Le TGD prend l'exemple d'une substance dont le métabolisme est connu, ce qui permettrait de remplacer la composante toxicocinétique du facteur

d'incertitude inter-espèces. Néanmoins, le TGD ne précise comment utiliser l'information sur la cinétique pour ajuster le facteur inter-espèces qui, pour mémoire, est fractionné par défaut en une composante AS pour les différences de toxicocinétique liées au taux métabolique et un facteur de 2,5 pour les différences résiduelles de toxicocinétique et de toxicodynamie.

Cependant, en raison de leur complexité et du nombre important de paramètres à prendre en considération, l'ajustement d'un modèle PBPK à des données expérimentales peut se révéler difficile. Dans la pratique, les modèles PBPK ne sont utilisés que pour quelques substances bien connues.

4.3.5 APPLICATION DES FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA DNEL SPECIFIQUE D'UN EFFET POUR UNE VOIE D'EXPOSITION PERTINENTE

Les facteurs d'incertitudes déterminés sont multipliés pour obtenir un facteur d'incertitude global. Afin d'établir la DNEL spécifique d'un effet, ce facteur d'incertitude global est appliqué à la dose critique corrigée selon la formule suivante :

$\text{Endpoint-specific DNEL} = \frac{\text{Dose critique corrigée}}{\text{AF}_1 \times \text{AF}_2 \times \dots \times \text{AF}_n} = \frac{\text{Dose critique corrigée}}{\text{AF global}}$

Tableau 9 : Tableau récapitulatif de la construction d'une DNEL, exemple de la construction de la DNEL élaborée pour l'effet cancérogène du chloroforme

	Population générale	Travailleurs
Etape a : Sélection de la dose critique		
Dose critique retenue	NOAEC = 24,8 mg/m ³	NOAEC = 24,8 mg/m ³
Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustement		
Différences d'absorption animal / homme	3	3
Ajustement de la voie d'exposition	-	-
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)	6/24 x 5/7	6/8
Ajustement des volumes respiratoires		6,7/10
NOAEC corrigé = NOAEC inhalation × facteurs d'ajustement	13,7 mg/m ³	38,6 mg/m ³
Etape c : Application des facteurs d'incertitude		
Facteurs d'incertitude		
Extrapolation inter espèces	17,5	17,5
Variabilité intra espèces	10	5
Transposition de durée d'exposition	1	1
Relation dose réponse	1	1
Qualité des données	1	1
Facteur d'incertitude global	175	87,5
Calcul de la DNEL	= 13,7 / 175 = 0,078 mg/m³	= 38,6 / 87,5 = 0,44 mg/m³

La DNEL obtenue est ainsi spécifique d'un effet, d'une voie d'exposition et d'une population. Elle peut être présentée sous forme d'un tableau récapitulatif tel que le R.8-16 présenté en annexe du TGD. Une adaptation de ce tableau est présentée ci-dessous en prenant pour exemple la DNEL pour les effets cancérogènes du chloroforme.

Tableau 10 : DNEL élaborée pour l'effet cancérogène du chloroforme

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet cancérogène - carcinomes rénaux	Inhalation Exposition Chronique	Population générale : DNEL= 0,08 mg/m ³ Travailleurs : DNEL= 0,4 mg/m ³	NOAEC = 24,8 mg/m ³ (5 ppm) Population générale : NOAEC corrigée = 13,7 mg/m ³ Travailleurs: NOAEC corrigée = 38,6 mg/m ³	Population générale : 175 = 17,5 (Inter-espèce) × 10 (intra-espèce) Travailleurs : 87,5 = 17,5 (Inter-espèces) × 5 (intra-espèce)	Nagano <i>et al.</i> , 1998

5. COMPARAISON DNEL/VTR

5.1 DEMARCHE SUIVIE

Dans un premier temps, une revue bibliographique a été réalisée sur les publications relatives aux DNEL/DMEL (articles ou rapports publics), en particulier sur les développements méthodologiques des DNEL/DMEL. Cette revue a ensuite été complétée par une analyse de la méthodologie d'établissement des DNEL/DMEL inscrite au "Guidance on information requirements and chemical safety assessment, Chapter R.8 : Characterisation of dose [concentration]-response for human health" http://reach.jrc.it/docs/guidance_document/information_requirements_en.htm?time=1219313997#r8 (ECHA, 2008a).

La comparaison méthodologique entre VTR académiques et DNEL a été conduite afin de mettre en évidence les similitudes et les divergences éventuelles. Les VTR académiques englobent les approches nationales des instances reconnues pour l'élaboration des VTR (US EPA, ATSDR, OEHHA, RIVM, Santé Canada, OMS/IPCS), l'approche européenne en appui de la directive 67/548/CEE ainsi que les approches nationales menées récemment. En effet, depuis 2006, des groupes d'experts coordonnés par l'AFSSET travaillent à la construction de VTR "nationales". La construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques a fait l'objet d'un rapport par le groupe d'experts concerné, rapport publié par l'AFSSET en juillet 2007. Un groupe de travail réfléchit actuellement à la construction de VTR pour des effets cancérogènes.

L'objectif étant de mettre en évidence les points clés essentiels sur les divergences/similitudes des VTR et des DNEL, des études de cas ont été réalisées. Les études de cas ont ciblé particulièrement les effets cancérogènes et reprotoxiques, préoccupants selon REACH. Dans ce contexte, des rapports relatifs aux méthodes de construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques et cancérogènes, élaborés dans le cadre des travaux nationaux de groupes d'experts coordonnés par l'AFSSET, ont été étudiés.

Les DNELs, dans la mesure du possible, ont été élaborées à partir de la même étude source que celle retenue pour l'élaboration des VTR. Pour chaque substance et effet retenu, une analyse bibliographique dans les bases de données en ligne (pubmed, toxnet) a été menée afin de rechercher une étude pertinente, pouvant compléter l'étude retenue (voire la substituer) pour l'établissement d'une DNEL de comparaison. Des DNELs pour la population générale et pour les travailleurs ont été établies. Cependant, comme les VTR "académiques" sont élaborées pour la population générale, seules les DNELs élaborées pour la population générale ont été comparées à ces VTR. Les conclusions qui sont établies peuvent être applicables aux DNELs pour les travailleurs, sachant que la principale différence entre la DNEL pour la population générale et pour les travailleurs est l'application du facteur d'incertitude intra-espèces (valeurs par défaut à 10 et 5, respectivement).

Par ailleurs, il est important de préciser que les valeurs de DNEL ont été arrondies car une valeur trop précise ne paraissait pas pertinente compte tenu des incertitudes liées à l'extrapolation des données.

5.2 DNELS POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES

5.2.1 DNELS POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT

5.2.1.1 L'ETHER ETHYLIQUE DE L'ETHYLENE GLYCOL (EGEE)

Les travaux de recherche bibliographique menés par Doornaert (2006) dans le cadre du groupe de travail " VTR reprotoxiques " (AFSSET) montrent que les effets critiques de l'EGEE sont des effets sur la reproduction chez l'homme et des effets sur la reproduction et le développement chez l'animal. L'organe cible après une exposition par inhalation chez l'homme est le testicule (Ratcliffe *et al.*, 1989 et Welch *et al.*, 1988). Un effet sur le développement a été uniquement constaté chez l'animal mais en raison du manque d'études chez l'homme, ce dernier effet a été retenu par principe de précaution, pour protéger la femme enceinte. Ces différentes informations ont mis en évidence qu'il est approprié de retenir l'EGEE pour l'élaboration de VTR ou DNEL pour les effets sur la fertilité et sur le développement.

L'intégralité de l'étude de cas est présentée en annexe, chapitre 1. Les valeurs numériques obtenues sont résumées ci-après :

Tableau 11 : DNEL pour les effets sur le développement de l'EGEE

Effet	Voie et durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude utilisée
Effet sur le développement - Fœtotoxicité	Inhalation Exposition aiguë (24 h)	DNEL= 3 mg/m ³	NOAEL = 184 mg/m ³ (50 ppm) Pas de correction de la dose critique (effets sur le développement)	60 = 2,4 × 2,5 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	Doe, 1984

La DNEL a été comparée à la VTR disponible pour les effets sur le développement de l'EGEE. Aucune VTR n'est disponible dans les 6 bases de données consultées et reconnues pour les VTR (US EPA/IRIS, OEHHA, RIVM, OMS/IPCS, ATSDR, Santé Canada). Le groupe d'experts national sur les VTR reprotoxiques (AFSSET), a établi une VTR pour les effets sur le développement de l'EGEE (AFSSET, 2007) dont la construction est synthétisée ci-dessous et qui a servi pour la comparaison avec la DNEL.

Tableau 12 : VTR disponible pour les effets sur le développement de l'EGEE
(AFSSET, 2007)

Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
Effet sur le développement - Fœtotoxicité	Inhalation Exposition aiguë (24 h)	VTR = 1,84 mg/m ³	NOAEL = 184 mg/m ³ (50 ppm)	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	Doe, 1984

La DNEL est supérieure d'un facteur 1,7 à la VTR de l'AFSSET, **cette différence numérique, repose sur l'application du facteur d'incertitude inter-espèces.** Pour l'établissement de la DNEL, le facteur est de 6, pour la VTR, il est de 10.

Dans les méthodologies VTR et DNEL, le facteur d'incertitude inter-espèces est appliqué pour couvrir les différences de sensibilité entre l'animal et l'homme sur la base de considérations de toxicocinétique et de toxicodynamie. *Cette étude de cas met ainsi en évidence que même lorsque les motivations sont identiques, les valeurs des facteurs peuvent être différentes.*

Dans l'établissement des DNEL, l'incertitude liée à l'extrapolation inter-espèces est prise en considération par :

- L'ajustement allométrique, reposant sur les besoins énergétiques de l'espèce. Cet ajustement est effectué à l'étape b d'établissement des DNEL dans le cas de DNEL inhalation ou à l'étape c par l'intermédiaire du facteur AS.
- Facteur pour les incertitudes résiduelles, fixé à 2,5

D'après la littérature, trois méthodes sont disponibles pour calculer le facteur AS : l'extrapolation fondée sur le poids corporel, la surface corporelle ou les besoins énergétiques. Les extrapolations sur la base des besoins énergétiques ou de la surface corporelle sont considérées comme plus appropriées que l'extrapolation à partir du poids corporel (Vermeire *et al.*, 1999). L'extrapolation sur la base des besoins énergétiques est la méthode la plus couramment rapportée pour l'extrapolation inter-espèces (ECETOC⁴, 2003 ; TNO⁵ cité dans Vermeire *et al.*, 1999). Différents organismes scientifiques tels que TNO (cité dans Vermeire *et al.*, 1999) et l'ECETOC (2003) recommandent également l'application de ce facteur AS. En outre, pour les incertitudes résiduelles, TNO (Vermeire *et al.* 1999, 2001) suggère un facteur égal à 3 alors que l'ECETOC (2003) ne le suggère pas.

La méthode DNEL est donc en accord avec les principes scientifiques pour l'extrapolation inter-espèces mais la subdivision appliquée (facteur allométrique AS et facteur résiduel 2,5) lui est propre. Dans le cas de l'EGEE, l'étude source étant menée chez le lapin, le facteur AS est de 2,4 et le facteur inter-espèces est de 6. Ce dernier aurait été équivalent à celui de la VTR (10) dans le cas d'une étude menée chez le rat (AS=4).

Les approches académiques utilisent la valeur de 10 par défaut (pour les VTR établies avant 1990) ou, plus récemment, comme dans le cas de l'AFSSET et de la VTR de l'EGEE,

⁴ ECETOC: European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals

⁵ TNO: Netherlands Organisation for Applied Scientific Research

reprennent la proposition de Renwick (1999) qui a identifié la valeur de 10 comme résultant de l'application de deux composantes égales à 4 et 2,5, respectivement. Ces deux composantes ont été proposées pour permettre de séparer les considérations toxicocinétiques et dynamiques afin de les étudier séparément lorsque les données sont disponibles pour l'une ou l'autre (IPCS, 1994 - WHO, 2005). Dans le cas de l'EGEE, aucune donnée n'a permis d'affiner l'une ou l'autre des composantes.

D'après Kalberlah et Schneider (1998), le facteur par défaut traditionnel de 10 ne couvrirait que partiellement les incertitudes liées à l'extrapolation inter-espèces. Ces auteurs proposent l'utilisation d'un facteur supplémentaire de 2 ou 3 (principalement pour les variations de toxicodynamie), la valeur du facteur d'incertitude inter-espèces total pouvant ainsi varier entre 8 et 12 pour une étude chez le rat et entre 14 et 21 pour une étude chez la souris. Ainsi, il semble qu'il n'y ait pas de méthode parfaitement appropriée pour l'extrapolation inter-espèces. Les méthodologies proposées pour les VTR académiques ou pour les DNEL sont ainsi scientifiquement justifiées mais différentes. Il est important de retenir que dans les différentes méthodologies, le facteur d'incertitude lié à la variabilité inter-espèces est subdivisé en deux composantes toxicocinétique et toxicodynamique mais que cette subdivision et la composante toxicocinétique reposent sur des hypothèses distinctes :

- Pour les VTR "académiques", la composante toxicocinétique du facteur d'extrapolation inter-espèces est indépendante de l'espèce ;
- Pour les DNELs, la composante toxicocinétique est essentiellement prise en compte par l'ajustement allométrique qui est dépendant de l'espèce étudiée.

Ainsi, dans le cas de l'EGEE et des effets sur le développement, la différence numérique constatée est liée à l'utilisation d'une étude chez le lapin et à l'application du facteur AS (ajustement allométrique) dépendant de l'espèce. Ici, le facteur d'incertitude inter-espèces pour la DNEL est de 6. Il aurait été équivalent à celui de la VTR (10) dans le cas d'une étude menée chez le rat (AS=4).

Par ailleurs, cet exemple a également souligné que les différences méthodologiques n'ont pas forcément d'impact numérique.

Par exemple, aucun ajustement de la dose critique n'a été effectué bien que les animaux aient été exposés 5 j/sem et 6 h/j. La méthodologie européenne prévoit un ajustement des données toxicologiques en fonction du temps par l'application de la loi de Haber simplifiée (Haber, 1924). Cet ajustement est considéré valide lorsque l'effet toxique est induit par la dose totale (cumulée) ou s'il dépend à la fois de la dose cumulée et de la concentration d'exposition mais il est jugé inadapté lorsque l'effet toxique est dépendant prioritairement de la concentration d'exposition. Les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (fenêtre de sensibilité) aussi l'ajustement sur les conditions d'exposition est inadapté pour les effets sur le développement. La proposition de méthodologie nationale développée par le groupe d'experts sur les VTR reprotoxiques ne recommande pas l'application de tels ajustements, soulignant la nécessité de mener une réflexion pour mieux comprendre les possibilités et la justification scientifique de cet ajustement. L'accent est en effet mis sur le fait que "*les fondements toxicologiques de cet ajustement ne sont pas toujours compris voire opposés au principe d'effet à seuil de dose*"⁶.

⁶ Cependant, il a été utilisé pour l'élaboration de la VTR reprotoxique (Cf. §1.8.2).

5.2.1.2 BORE

L'effet critique du bore identifié est son effet sur le développement et la substance a donc été retenue comme étude de cas pour l'établissement de la DNEL. L'intégralité de l'étude est présentée en annexe, chapitre 3. Les valeurs numériques obtenues sont présentées ci après. A noter que dans le cas du bore, deux dérivations de DNEL ont été menées en parallèle, à partir du NOAEL et de la BMD en raison de leur disponibilité et de l'intérêt méthodologique.

Tableau 13 : Synthèse de la construction des DNEL dérivées pour l'effet sur le développement du bore

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	DNEL= 0,2 mg/kg-j	BMDL ₀₅ = 10,3 mg/kg-j Pas de correction de la dose critique	47 = 8,25 (Inter-espèce) × 5,7 (Intra-espèce)	Allen <i>et al.</i> , 1996
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	DNEL= 0,2 mg/kg-j	NOAEL = 9,6 mg/kg-j Pas de correction de la dose critique	47 = 8,25 (Inter-espèce) × 5,7 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996

Les valeurs des doses critiques (NOAEL=9,6 mg/kg-j et BMD=10,3 mg/kg-j) étant très proches, les deux DNELs obtenues sont identiques numériquement après arrondi de la valeur. Il n'est pas possible de préciser, sur la base de cet exemple, s'il est plus pertinent de retenir le NOAEL ou la BMD. La DNEL issue du NOAEL (légèrement inférieure en valeur avant l'arrondi) a été comparée aux VTR disponibles dans la littérature pour les effets sur le développement du bore, lesquelles sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 14 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature pour les effets sur le développement bore

Organisme (année)	Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
US EPA/ IRIS (2004)	Effet sur le développement - Fœtotoxicité (diminution du poids des fœtus)	Orale Chronique	RfD = 0,2 mg/kg-j	BMDL ₀₅ = 10,3 mg/kg-j	66 UF _A = 10,43 3,3*3,16 (Inter-espèce) UF _H = 6,32 2*3,16 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996a - Heindel <i>et al.</i> , 1992
OMS (2003)	Effet sur le développement - Fœtotoxicité (diminution du poids des fœtus)	Orale Chronique	TDI = 0,16 mg/kg-j	NOAEL = 9,6 mg/kg-j	60 UF _A = 10 (Inter-espèce) UF _H = 6 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996a
Santé Canada (2004)	ND	ND	DJA = 0,0175 mg/kg-j	ND	ND	ND
ATSDR (2007,draft)	Effet sur le développement -	Orale Aiguë	MRL = 0,2 mg/kg-j	NOAEL = 22 mg/kg-j	100 UF _A = 10 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996b -
ATSDR (2007,draft)	Effet sur le développement - Fœtotoxicité (diminution du poids des fœtus)	Orale Intermédiaire	MRL = 0,2 mg/kg-j	BMDL ₀₅ = 10,3 mg/kg-j	66 UF _A = 10,43 3,3*3,16 (Inter-espèce) UF _H = 6,32 2*3,16 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996a - Heindel <i>et al.</i> , 1992

NOAEL_{ADJ} : NOAEL ajusté en fonction du temps

NOAEL_{HEC} : Concentration équivalente humaine (NOAEL_{HEC} = NOAEL_{ADJ} x λ animal / λ homme - λ étant le coefficient de partage sang / air)

Les valeurs numériques des VTR et DNEL sont très proches voire identiques (0,16 à 0,2 mg/kg-j), le facteur qui sépare la DNEL de la VTR de l'OMS est de 1,3. **Bien que les doses critiques de départ soient différentes (DNEL : NOAEL=9,6 mg/kg-j, et RfD ou DJA : BMD=10,3 mg/kg-j), l'élément de distinction entre VTR et DNEL est le facteur d'incertitudes inter-espèces appliqué qui malgré tout permet d'arriver à des valeurs similaires : l'utilisation de données de cinétique du bore a permis l'application de facteurs d'incertitude réduits.**

Pour l'établissement de la DNEL, le facteur d'incertitude inter-espèces est de 8,5, résultant de l'application du facteur AS ajusté (3,3) et du facteur pour les incertitudes résiduelles de 2,5. Le facteur d'incertitude inter-espèces appliqué par l'US EPA est de 10,4, résultat de la composante toxicocinétique ajustée à 3,3 et de la composante toxicodynamique par défaut de 3,16. Bien que les mêmes données de toxicocinétiques aient été utilisées pour les VTR et la DNEL, le facteur d'incertitude inter-espèces appliqué est différent.

A noter également que d'après le TGD, les informations spécifiques à une substance peuvent être utilisées pour déterminer les différences inter-espèces. Or, la procédure par défaut du TGD consiste à corriger les différences de "taux métabolique" (ajustement allométrique, facteur AS), puis à appliquer un facteur supplémentaire de 2,5 pour les différences toxico-dynamiques et toxico-cinétiques non liées au taux métabolique. Ainsi, la manière d'utiliser les données de toxicocinétiques du bore pour

ajuster le facteur AS et/ou le facteur 2,5 n'apparaît pas clairement. En effet, les données sur la cinétique du bore ne sont pas seulement liées à la demande énergétique de l'espèce étudiée. Il a été jugé pertinent d'utiliser les informations toxicocinétiques du bore et d'ajuster le facteur AS ce qui n'est pas une démarche clairement explicitée dans le TGD. **Cet exemple souligne qu'il conviendrait d'améliorer la clarté du TGD sur l'utilisation des données toxicocinétiques et toxicodynamiques disponibles pour une substance donnée pour ajuster les composantes par défaut : facteur AS et facteur résiduel de 2,5.**

Par ailleurs, dans cette étude de cas voie orale, comme l'exposition est continue, il n'est pas recommandé d'ajuster la dose critique sur les conditions d'exposition. Or, dans les études de cas par inhalation, cet ajustement de la dose critique a été mis en évidence comme facteur différentiel entre DNEL et VTR **ce qui laisse penser que les divergences VTR/DNEL seront plus marquées pour la voie de l'inhalation.**

En l'absence d'informations spécifiques sur le bore (cinétique) et leur prise en compte, la construction de la DNEL en appliquant les facteurs par défaut aurait conduit à une DNEL d'une valeur de 0,10 mg/kg-j, soit d'un facteur 2 inférieure à la DNEL calculée. Ceci pour souligner combien **la méthodologie d'établissement des DNEL est plus précise et permet une prise en compte de l'ensemble des informations disponibles pour l'obtention d'une DNEL plus affinée, celle-ci pouvant être moins conservatrice pour la santé.**

5.2.1.3 CHLOROETHANE

Bien que les effets critiques du chloroéthane n'aient pas été clairement identifiés, la survenue d'effets reprotoxiques a été mise en évidence dans différentes études rapportées dans la monographie de l'ATSDR (1998). Plusieurs instances reconnues ont élaboré une VTR pour les effets reprotoxiques du chloroéthane, aussi cette substance a été retenue pour l'analyse comparative VTR/DNEL.

L'objectif du présent rapport étant d'observer les divergences numériques VTR/DNEL, à données sources équivalentes dans la mesure du possible, deux DNEL ont été établies. La première (DNEL cas 1) s'appuie sur les coefficients de partage sang-air disponibles pour la souris et pour l'homme, la seconde (DNEL cas 2) sur une dose critique non ajustée pour les différences d'absorption entre l'homme et la souris, ces coefficients (Gargas *et al.*, 2008) n'étant pas disponibles au moment de l'élaboration des VTR. L'intégralité de l'étude de cas est présentée en annexe, chapitre 2. Les valeurs numériques sont résumées ci-après :

Tableau 15 : Synthèse de la construction des DNEL dérivées pour l'effet sur le développement du chloroéthane

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet sur le développement - Fœtotoxicité	Inhalation	Population générale : DNEL= 43 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm)	Population générale : 175 =7 × 2,5 (Inter-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986
	Exposition Aiguë Cas 1	Travailleurs : DNEL= 58 mg/m ³	Population générale : NOAEC corrigé = 7584 mg/m ³	× 10 (Intra-espèce)	
Effet sur le développement - Fœtotoxicité	Inhalation	Population générale : DNEL= 23 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm)	Population générale : 175 = 7 × 2,5 (Inter-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986
	Exposition Aiguë Cas 2	Travailleurs : DNEL= 31 mg/m ³	Population générale : Pas de correction	× 10 (Intra-espèce)	
			Travailleurs : NOAEC corrigé = 2680 mg/m ³	Travailleurs : 87,5 =17,5(Inter-espèce) × 5 (Intra-espèce)	

Les DNEL ont été comparées aux VTR disponibles dans la littérature, lesquelles sont présentées dans le tableau ci-après comme élément support de discussion.

Tableau 16 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature pour les effets sur le développement chloroéthane

Organisme (année)	Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
US EPA/IRIS (1991)	Effet sur le développement - Fœtotoxicité (retard ossification)	Inhalation, Exposition chronique	RfC = 10 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm) NOAEC _{ADJ} = 4000 mg/m ³ (pas d'ajustement) NOAEC _{HEC} = 4000 mg/m ³ (facteur 1 par défaut)	300 UF _A = 3 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce) UF _D = 10 (manque de données)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986
OEHHA (2005)	Effet sur le développement - Fœtotoxicité (retard ossification)	Inhalation, Exposition chronique	REL = 30 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ NOAEC _{ADJ} = 1000 mg/m ³ (4000 * 6/24) NOAEC _{HEC} = 1000 mg/m ³ (facteur 1 par défaut)	30 UF _A = 3 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986
ATSDR (1998)	Effet sur le développement - Fœtotoxicité (retard ossification)	Inhalation, Exposition Aiguë	MRL = 40 mg/m ³ (15 ppm)	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm) NOAEC _{ADJ} = 4000 mg/m ³ (pas d'ajustement) NOAEC _{HEC} = 4000 mg/m ³ (facteur 1 par défaut)	100 UF _A = 10 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986

NOAEL_{ADJ} : NOAEL ajusté en fonction du temps

NOAEL_{HEC} : Concentration équivalente humaine (NOAEL_{HEC} = NOAEL_{ADJ} x λ animal / λ homme - λ étant le coefficient de partage sang / air)

La DNEL dérivée pour les effets sur le développement et utilisant les coefficients de partage sang-air (Cas 1) est égale à 43 mg/m³. Elle prend en compte les informations toxicologiques disponibles sur le chloroéthane les plus récentes. Parmi les 2 DNEL calculées, cette dernière est la plus pertinente. La DNEL est supérieure aux VTR académiques d'un facteur 1,1 à 4,3.

De nombreuses similitudes existent dans les méthodologies d'élaboration des DNELs et des VTR et par exemple, dans le cas des effets sur le développement, l'ajustement sur les conditions d'exposition (6h/j) n'est pas réalisé pour la DNEL, ni pour les VTR (sauf par l'OEHHA).

Toutefois, quelques points clés importants sont à souligner. **Le facteur d'incertitude inter-espèces dans cet exemple est encore à l'origine des différences numériques et méthodologiques VTR/DNEL.** A étude source et hypothèses équivalentes, la VTR de l'ATSDR se distingue numériquement de la DNEL cas 2 d'un facteur 1,75. Cette divergence est liée uniquement à la différence dans la composition du facteur d'incertitude inter-espèces : 10 pour la VTR et 17,5 (7x2,5) pour la DNEL. Contrairement à l'EGEE où le facteur d'incertitude était inférieur à celui de la VTR (6 vs 10) car l'étude était menée chez le lapin, ici le facteur d'incertitude inter-espèces est supérieur (17,5 vs 10) car l'étude source est chez la souris.

Ainsi, le facteur d'incertitude repose sur l'espèce étudiée, l'impact numérique peut être une DNEL plus conservatrice pour la santé (comme ici dans le cas d'une étude chez la souris) ou non (exemple de l'EGGE et d'une étude lapin). Aussi, cette étude de cas pour les effets sur le développement du chloroéthane souligne qu'il est possible d'obtenir la même valeur de référence (DNEL ou VTR) en utilisant les mêmes données sources, dans le cas où ce sont des facteurs par défaut qui sont utilisés, lors de l'exploitation d'une étude chez le rat car dans ce cas, les raisonnements DNEL et VTR conduisent à l'application du même facteur d'incertitude inter-espèces.

Par ailleurs, cette étude de cas a montré que, bien que la méthodologie DNEL soit précise et scientifiquement justifiée, elle demeure indissociable du jugement d'expert, notamment par l'application du facteur d'incertitude sur la qualité des données. Dans l'exemple ici, seul l'US EPA se distingue en ayant appliqué un facteur 10 alors qu'il est de 1 pour les autres instances et pour la DNEL.

S'agissant de la DNEL cas 1, l'ajustement de la dose critique permet d'obtenir une DNEL plus affinée. Cette valeur de DNEL est le reflet d'une meilleure connaissance de la substance, elle est ainsi plus pertinente bien qu'elle soit moins conservatrice pour la santé. Cet exemple souligne ainsi la pertinence d'utiliser toutes les informations disponibles sur le profil cinétique et toxicologique des substances pour permettre l'établissement de DNEL plus affinées. A noter par ailleurs que cette DNEL, plus affinée, est moins conservatrice pour la santé.

5.2.1.4 HEXACHLOROBENZENE

L'hexachlorobenzène (HCB) a été retenu car il s'agit d'une substance à laquelle la population est exposée dans l'environnement du fait d'une utilisation passée agricole et industrielle et de son caractère bio-accumulable et persistant (caractère PBT selon REACH). L'HCB traverse la barrière placentaire, s'accumule dans les tissus fœtaux et passe dans le lait maternel et provoque des effets néfastes sur le développement chez l'homme et chez l'animal. L'intégralité de l'étude de cas est présentée en annexe, chapitre 5. Les tableaux ci-après recensent les valeurs numériques des VTR et DNEL :

Tableau 17 : Synthèse de la construction de la DNEL dérivée pour l'effet sur le développement du HCB

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude utilisée
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	DNEL= 0,008 mg/kg-j	LOAEL = 2,5 mg/kg-j Pas de correction dose critique	300 = 10 (Inter-espèces) × 10 (Intra-espèce) × 3 (Relation dose-réponse)	Goldey et Taylor, 1992

Tableau 18 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature pour les effets sur le développement du HCB

Effet	Voie - durée d'exposition	VTR	Dose critique	AF	Etude utilisée
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	MRL= 0,008 mg/kg-j	LOAEL = 2,5 mg/kg-j Pas de correction dose critique	300 = 10 (Inter-espèces) × 10 (intra-espèce) x 3 (relation dose-réponse)	Goldey et Taylor, 1992

La DNEL et la VTR sont équivalents à 0,008 mg/kg/j. *Aucune différence numérique ni méthodologique n'a été mise en évidence entre VTR et DNEL dans le cas des effets sur le développement par ingestion d'HCB.*

A noter que jusqu'ici, le facteur d'incertitude inter espèces, en lien avec l'ajustement allométrique, a été à l'origine des divergences numériques observées entre DNEL et VTR mais ce n'est pas le cas pour cet exemple, dont l'étude source est menée chez le rat. Le raisonnement conduisant à l'application du facteur d'incertitude par défaut des DNEL (AS x 2,5) n'a pas été suivi: l'ajustement allométrique n'a pas été appliqué, conformément aux recommandations du TGD qui spécifient qu'il n'est pas applicable à toutes les substances. En effet, le HCB est éliminé sous forme métabolisée dans les urines et sous forme inchangée par voie fécale et il s'accumule dans le tissu adipeux. Ainsi, le facteur d'incertitude inter-espèce appliqué est équivalent à celui de la VTR (valeur empirique de 10). En suivant la procédure classique du TGD, comme l'étude source est menée chez le rat, le facteur inter-espèces aurait également été de 10 (2,4 x 2,5).

Par ailleurs, aucun ajustement de la dose critique n'a été nécessaire car il s'agit d'une étude voie orale et les conditions d'exposition correspondent à celle de la population générale.

Cette étude de cas appuie les constatations établies d'après les précédentes études de cas : les différences VTR/DNEL sont moins marquées pour la voie orale et la différence liée au facteur d'incertitudes inter-espèces est limitée lors de l'exploitation d'une étude chez le rat.

5.2.2 DNELS POUR LES EFFETS SUR LA FERTILITE

5.2.2.1 EGEE

De la même manière que pour les effets sur le développement, l'EGEE a été retenu pour la comparaison VTR/DNELs concernant les effets reprotoxiques, ici la fertilité.

L'intégralité de l'étude de cas est présentée en annexe, chapitre 1. Les valeurs numériques pour la DNEL et les VTR " académiques " sont rappelées dans les tableaux ci-après :

Tableau 19 : DNEL dérivée pour l'effet sur la fertilité de l'EGEE

Effet	Voie et durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation Exposition Chronique	DNEL = 0,57 mg/m ³	NOAEL = 380 mg/m ³ (103 ppm) NOAEL _{corrigé} = 68 mg/m ³	120 = 2,4 × 2,5 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) × 2 (étude subchronique)	Barbee <i>et al.</i> , 1984

Tableau 20 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature

Organisme (année)	Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
US EPA/ IRIS (1991)	Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation - Chronique	RfC = 2.10 ⁻¹ mg/m ³	NOAEL = 380 mg/m ³ (103 ppm) NOAEL _{HEC} = 68 mg/m ³	300 = 3 (inter-espèce) × 10 (intra-espèce) × 10 (étude sub-chronique)	Barbee <i>et al.</i> , 1984
OEHHA (2005)	Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation - Chronique	REL = 7.10 ⁻² mg/m ³	NOAEL = 380 mg/m ³ (103 ppm) NOAEL _{HEC} = 68 mg/m ³	1000 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) × 10 (étude sub-chronique)	Barbee <i>et al.</i> , 1984
AFSSET (2007)	Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation - Chronique	VTR = 7.10 ⁻¹ mg/m ³	NOAEL = 380 mg/m ³ (103 ppm) NOAEL _{ADJ} = 68 mg/m ³	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	Barbee <i>et al.</i> , 1984

NOAEL_{ADJ} : NOAEL ajusté en fonction du temps / NOAEL_{HEC} : Concentration équivalente humaine (NOAEL_{HEC} = NOAEL_{ADJ} × λ animal / λ homme - λ étant le coefficient de partage sang / air)

La DNEL calculée est inférieure aux VTR académiques chroniques d'un facteur 3 à 9. Comme pour les effets sur le développement de l'EGEE, la comparaison méthodologique met l'accent sur des différences liées à l'application du facteur d'extrapolation inter-espèces et de l'ajustement allométrique mais aussi du facteur d'incertitude lié à l'incertitude temporelle.

Pour les VTR académiques recensées dans le cadre des effets reprotoxiques de l'EGEE, un facteur d'incertitude inter-espèces (UF_A) égal à 10 a été appliqué par l'OEHHA et le groupe d'expert de l'AFSSET, valeur de 10 reposant sur des considérations de toxicocinétique et de toxicodynamie. Le facteur inter-espèces de l'US EPA repose sur les mêmes considérations mais dans le cas de l'EGEE, la valeur de 3 a été retenue. La valeur du facteur UF_A a été réduite à 3 en raison de la diminution de l'incertitude sur la composante toxicocinétique du fait de l'ajustement allométrique réalisé (ajustement

dit dosimétrique par l'US EPA). Cet exemple vient donc nuancer la conclusion qui avait été établie pour les effets sur le développement de l'EGEE (§5.2.1.1). Dans les méthodologies DNEL/VTR, non seulement la subdivision du facteur d'incertitude lié à la variabilité inter-espèces est différente mais la composante toxicocinétique repose également sur des hypothèses distinctes :

- Pour les VTR "académiques", la composante toxicocinétique du facteur d'extrapolation inter-espèces peut être modulée lorsque les différences d'absorption ont été prises en compte au préalable par un ajustement dosimétrique⁷ (hypothèse non suivie par l'AFSSET), mais elle est indépendante de l'espèce ;
- Pour les DNELs, la composante toxicocinétique est essentiellement prise en compte par l'ajustement allométrique qui est dépendant de l'espèce étudiée ; l'ajustement sur les différences d'absorption n'influence pas le facteur d'incertitude inter-espèces.

Cette différence sur l'ajustement allométrique et l'ajustement sur les différences d'absorption (coefficients de partage air-sang) sont des éléments clé à l'origine de la différence numérique et méthodologique entre VTR et DNEL.

Dans le cas de l'EGEE et des effets sur la fertilité, la différence numérique constatée est liée à l'utilisation d'une étude chez le lapin et à l'application du facteur AS dépendant de l'espèce mais aussi, en ce qui concerne l'US EPA, à l'utilisation des coefficients d'absorption (même lorsqu'ils ne sont pas connus) et l'application du facteur inter-espèces réduit qui en découle.

Le facteur d'incertitude temporelle est lié à la transposition de la durée d'exposition. Il dépend du cadre d'application de la VTR : l'AFSSET a établi une VTR subchronique ainsi aucun facteur n'a été appliqué. L'utilisation des valeurs de référence pour des situations chroniques, comme ce sera le cas pour les scénarios d'exposition de la population générale, requiert des valeurs chroniques. Le TGD propose, pour une extrapolation à une utilisation chronique, des valeurs ajustées en fonction de la durée d'exposition de l'étude source (ici la valeur de 2 a été appliquée car l'étude de Barbee *et al.* (1984) est subchronique) alors que pour les VTR, la valeur du facteur est de 10 (parfois 3), ce qui fait un écart d'un facteur 5 (1,5) avec la méthodologie DNEL dans le cas d'étude subchronique. La proposition du TGD n'est pas rigoureusement justifiée mais ne paraît pas infondée, sur la base de considérations empiriques. **Il est important de noter que les valeurs recommandées par le TGD (2 ou 6) pour le facteur d'incertitude sur la durée d'exposition sont différentes de celles utilisées pour les VTR (3 ou 10), un impact numérique systématique entre DNEL et VTR est donc à envisager.**

5.2.2.2 HEXACHLOROBENZENE

L'hexachlorobenzène (HCB) a été retenu car il s'agit d'une substance à laquelle la population est exposée dans l'environnement du fait d'une utilisation passée agricole et industrielle et de son caractère bio-accumulable et persistant (caractère PBT selon REACH). L'HCB traverse la barrière placentaire, s'accumule dans les tissus fœtaux et passe dans le lait maternel et provoque des effets néfastes sur le développement chez l'homme et chez l'animal. L'intégralité de l'étude de cas est présentée en annexe, chapitre 5. Les tableaux ci-après recensent les valeurs numériques des VTR et DNEL :

⁷ L'ajustement dosimétrique pour la voie de l'inhalation tient compte des coefficients de partage air-sang et donc de l'absorption des substances. Pour la voie orale, l'ajustement dosimétrique repose seulement sur les poids corporels (et non sur les facteurs d'absorption) mais en pratique il n'a pas utilisé (Bonvallot et Dor, 2002). Ici, l'ajustement dosimétrique concerne donc implicitement la voie de l'inhalation.

Tableau 21 : Synthèse de la construction de la DNEL dérivée pour l'effet sur la fertilité du HCB

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet sur la fertilité - altération des ovaires	Ingestion Exposition Sub-chronique	DNEL= 0,00005 mg/kg-j	LOAEL = 0,01 mg/kg-j Pas de correction dose critique	180 = 3 (Inter-espèces) × 10 (Intra-espèce) × 2 (Durée exposition) × 3 (Relation dose-réponse)	Bourque <i>et al.</i> , 1995

Tableau 22 : Valeur toxicologique de référence disponible dans la littérature (ATSDR)

Effet	Voie - durée d'exposition	VTR	Dose critique	AF	Etude utilisée
Effet sur la fertilité - altération des ovaires	Ingestion Exposition Sub-chronique	MRL= 0,0001 mg/kg-j	LOAEL = 0,01 mg/kg-j	90 = 3 (Inter-espèces) × 10 (Intra-espèce) × 3 (Relation dose-réponse)	Bourque <i>et al.</i> , 1995

Les méthodologies d'élaboration DNEL et VTR sont identiques dans le cas des effets sur la fertilité de l'HCB. L'ajustement allométrique n'étant pas approprié pour l'HCB (§5.2.1.4), la procédure par défaut du TGD pour l'application du facteur d'incertitude inter-espèces (AS x 2,5) n'a pas été suivie et les recommandations du TGD sont dans ce cas moins précises. Aussi, le facteur d'incertitudes inter-espèces appliqué pour la DNEL a été similaire à celui de la VTR (3) : l'utilisation d'un facteur communément utilisé pour l'établissement de valeurs de référence a été jugée pertinent.

Par ailleurs, aucun ajustement de la dose critique n'a été nécessaire car il s'agit d'une étude voie orale et les conditions d'exposition correspondent à celle de la population générale.

Comme pour les effets sur le développement (Cf. § 5.2.1.4), aucune différence numérique ni méthodologique n'a été mise en évidence entre VTR et DNEL dans le cas des effets sur la fertilité par ingestion d'HCB. Cette étude de cas appuie les constatations établies d'après les précédentes études de cas : les différences VTR/DNEL sont moins marquées pour la voie orale.

5.3 DNEL POUR LES EFFETS SYSTEMIQUES

L'étude de cas pour les effets systémiques a été réalisée pour les effets hépatiques de l'hexachlorobenzène. L'hexachlorobenzène (HCB) a été retenu car il s'agit d'une substance à laquelle la population est exposée dans l'environnement du fait d'une utilisation passée agricole et industrielle et de son caractère bio-accumulable et persistant (caractère PBT selon REACH). Les effets hépatiques ont été mis en évidence chez l'homme et chez l'animal.

L'intégralité de l'étude de cas est présentée en annexe, chapitre 5. Les tableaux ci-après recensent les valeurs numériques des VTR et DNEL :

Tableau 23 : DNEL dérivée pour l'effet hépatique de l'hexachlorobenzène

Effet	Voie - durée d'exposition	Dose critique corrigée	AF	DNEL	Etude utilisée
Effet hépatique	Ingestion (alimentation) Exposition chronique	NOAEL = 1,6 ppm d'HCB soit 0,08 mg/kg-j de poids corporel Dose critique non ajustée	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	0,0008 mg/kg-j	Arnold <i>et al.</i> , 1985

Tableau 24 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature

Instance	Effet	Voie - durée d'exposition	Dose critique	UF	VTR	Etude utilisée
US EPA (1991)	Effet hépatique	Ingestion (alimentation) Exposition chronique	NOAEL = 1,6 ppm d'HCB soit 0,08 mg/kg-j de poids corporel Dose critique non ajustée	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	RfD = 0,0008 mg/kg-j	Arnold <i>et al.</i> , 1985
ATSDR (2002)	Effet hépatique : fibrose et lymphocytose périhépatique	Ingestion (alimentation) Exposition chronique	LOAEL = 0,32 ppm d'HCB soit 0,0016 mg/kg-j de poids corporel Dose critique non ajustée	300 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) × 3 (LOAEL)	MRL = 0,00005 mg/kg-j	Arnold <i>et al.</i> , 1985

La DNEL dérivée pour les effets sur le foie pour la population générale en exposition chronique est égale à 8.10^{-4} mg/kg-j. Elle est ainsi équivalente à celle de l'US EPA et supérieure d'un facteur 15 à celle de l'ATSDR.

La différence numérique entre la VTR de l'ATSDR et la DNEL réside **dans le jugement d'experts**. L'interprétation des résultats de l'étude de Arnold *et al.* (1985) et la définition des effets critiques sont différentes : les doses critiques associées aux effets critiques retenus par l'ATSDR ou la DNEL (comme l'US EPA) diffèrent d'un facteur 5. De plus, les effets rapportés par l'ATSDR sont considérés comme des effets adaptatifs. La dose critique de l'ATSDR étant un LOAEL, un facteur d'incertitude supplémentaire de 3 est par ailleurs utilisé, lequel aurait également été utilisé pour l'établissement de la DNEL. Ainsi, la méthodologie DNEL est similaire à celle des VTR et dans le cas de l'hexachlorobenzène, les valeurs sont numériquement identiques.

A noter que lors des études de cas pour les effets reprotoxiques, le facteur d'incertitude inter-espèces a été à l'origine des divergences numériques observées entre DNEL et VTR. Ce n'est pas le cas pour cet exemple. En effet, l'ajustement allométrique n'étant pas approprié pour l'HCB (§5.2.1.4), la procédure par défaut du TGD pour l'application du facteur d'incertitude inter-espèces (AS x 2,5) n'a pas été suivie et les recommandations du TGD sont dans ce cas moins précises. Ainsi, le facteur d'incertitude inter-espèce appliqué est équivalent à celui de la VTR (valeur 10 par défaut). Toutefois, comme il s'agit d'une étude chez le rat, la valeur de 10 aurait également été retenue en suivant la méthodologie DNEL (ajustement allométrique), ce qui suggère, comme

précédemment souligné, que lorsque l'étude source utilisée est chez le rat, les divergences numériques VTR et DNEL sont moins marquées.

Par ailleurs, il n'y a pas eu d'ajustement de la dose critique comme l'exposition par voie orale est continue. Dans les études de cas par inhalation, cet ajustement de la dose critique a été mis en évidence comme facteur différentiel entre DNEL et VTR. Ceci appuie les précédentes constatations : les divergences VTR/DNEL sont plus marquées lorsque la voie d'exposition est l'inhalation.

5.4 DNEL POUR LES EFFETS CANCEROGENES

Pour les effets cancérogènes, des DNEL ou des DMEL peuvent être établies selon le mode d'action des substances : pour les substances sans seuil d'effet (composés génotoxiques), une DMEL doit être établie ; pour les substances à seuil d'effet (par exemple, composé cytotoxique engendrant une prolifération cellulaire compensatrice), une DNEL doit être établie. L'étude de cas pour les effets cancérogènes a été réalisée pour le chloroforme. Les effets cancérogènes de cette substance ont été démontrés comme ayant un seuil d'effet par inhalation et il a été ainsi jugé approprié de la retenir pour l'établissement d'une DNEL. L'intégralité de l'étude de cas est présentée en annexe, chapitre 4, le tableau ci-dessous présente la DNEL élaborée pour les effets cancérogènes du chloroforme.

Tableau 25 : DNEL pour les effets cancérogènes du chloroforme

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet cancérogène - carcinomes rénaux	Inhalation Exposition Chronique	Population générale : DNEL= 0,08 mg/m ³	NOAEC = 24,8 mg/m ³ (5 ppm) NOAEC _{corrigée} = 13,7 mg/m ³	25 = 17,5 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	Nagano <i>et al.</i> , 1998

Aucune VTR à seuil pour les effets cancérogènes du chloroforme n'étant établie dans les 6 bases consultées (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), la comparaison méthodologique s'est appuyée sur la seule VTR à seuil disponible qui est celle issue d'une expertise de l'INERIS.

A noter toutefois que l'ATSDR, l'OMS, l'OEHHA, et le RIVM proposent des VTR à seuil pour les effets systémiques non cancérogènes (valeurs présentées en annexe). La DNEL n'est que légèrement inférieure à l'ensemble de ces VTR, valeurs comprises entre 0,1 et 0,3 mg/m³ en fonction des agences, ce qui est en accord avec le mécanisme d'action cancérogène à seuil du chloroforme (voir détails dans l'étude de cas en annexe).

**Tableau 26 : VTR à seuil disponible pour les effets cancérogènes
du chloroforme par inhalation**

Organisme (année)	Effet	Voie - durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
INERIS (2006)	Effet cancérogène - Carcinome rénal	Inhalation Exposition Chronique	$VTR = 6,7 \cdot 10^{-2} \text{ mg/m}^3$	NOAEL = 5 ppm (24,8 mg/m ³) NOAEL _{ADJ} = 0,89 ppm (4,41 mg/m ³) (NOAEL x 6h/24 x 5j/7)	70 UF _A = 7 (inter-espèce) UF _H = 10 (intra-espèce)	Nagano <i>et al.</i> , 1998

La DNEL dérivée pour les effets cancérogènes/population générale/exposition chronique est égale à 0,08 mg/m³. La DNEL calculée ainsi est supérieure à la valeur de l'INERIS (0,063 mg/m³) d'un facteur 1,25.

Dans le cas des effets cancérogènes du chloroforme, la **divergence numérique constatée entre la DNEL (0,08 mg/m³) et la VTR INERIS (0,067 mg/m³)** réside dans l'ajustement de la dose critique et l'application du facteur d'incertitude inter espèces qui en décline, les autres éléments de la construction de la VTR comme de la DNEL étant similaires :

- ✓ Pour l'établissement de la DNEL, les coefficients de partage sang-air animal/homme ont été utilisés et ont permis l'ajustement de la dose critique d'un facteur 3. Ce facteur 3 n'a pas été employé pour l'élaboration de la VTR académique (pour la DNEL : NOAEC_{corrigée} = 13,3 mg/m³, pour la VTR : NOAEC_{ajustée} = 4,41 mg/m³).
- ✓ Pour l'établissement de la DNEL, le facteur d'incertitude inter-espèces utilisé est de 2,5 pour les incertitudes résiduelles et le facteur d'ajustement allométrique (7 pour la souris). Le facteur d'incertitude pour la construction de la VTR INERIS est la valeur de 7 par défaut pour prendre en compte les incertitudes toxicocinétiques et toxicodynamiques. La différence est d'un facteur 1,25.

Dans les études de cas précédentes, l'impact numérique lié au facteur inter-espèces pouvait conduire à des DNEL plus ou moins conservatrice que les VTR, selon les cas (pour des données chez le lapin, la valeur est inférieure à 10 mais chez la souris, la valeur est supérieure à 10). Ici, le facteur d'incertitudes inter-espèces pour les DNEL (AS et facteur résiduel) conduit à des DNEL plus sécuritaires que les VTR établies selon la méthodologie européenne de 2006.

Si les coefficients de partage n'avaient pas été utilisés, la DNEL (0,025 mg/m³) serait inférieure d'un facteur 2,5 à la VTR INERIS (en raison de la composante pour les incertitudes résiduelles de 2,5) et non d'un facteur 1,25. **Cet exemple montre que la multiplication des différences méthodologiques n'a pas nécessairement un impact plus conséquent sur la différence numérique entre VTR/DNEL.** Ici, l'impact du facteur inter-espèces est atténué par l'utilisation des coefficients de partage air-sang.

Par ailleurs, cet exemple souligne encore une fois que l'utilisation de toute information disponible sur le profil toxicologique d'une substance permet l'établissement d'une DNEL plus affinée (coefficients de partage air-sang), celle-ci alors pouvant être moins conservatrice pour la santé.

5.5 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les comparaisons VTR/DNEL effectuées dans les études de cas se sont basées sur les effets préoccupants au sens de REACh, notamment les effets reprotoxiques et cancérogènes. Ces comparaisons ont mis en évidence de grandes similitudes méthodologiques entre VTR et DNEL qui ont été associées à de légères différences numériques : dans l'ensemble des études de cas, les différences numériques constatées sont de l'ordre de 1 à 4, elles n'ont pas excédé la valeur de 9 (si l'on exclut le cas des effets hépatiques de l'hexachlorobenzène pour lesquels la distinction effet physiologique/effet adverse et la définition de la dose critique est différente).

Pour les VTR "académiques" comme pour les DNEL, l'extrapolation des données repose sur des facteurs d'ajustement et d'incertitude appliqués à la dose critique, lesquels sont à l'origine des divergences numériques. Ces facteurs ont fait ces dernières années l'objet d'un développement intéressant par rapport à leur plausibilité biologique : les facteurs d'incertitudes inter- et intra-espèces sont subdivisés en deux pour tenir compte des connaissances toxicocinétiques et toxicodynamiques. Les principes méthodologiques pour l'élaboration des DNEL tout comme pour les VTR "académiques" tiennent compte de cette évolution. Les VTR ou DNEL qui découlent de ces constructions sont alors supposées être pondérées de facteurs d'incertitudes plus précis que la valeur de 10 empiriquement retenue.

- Les études de cas ont particulièrement mis l'accent sur la différence liée au facteur d'incertitude inter-espèces. La méthode DNEL se distingue par la subdivision entre les composantes toxicocinétiques et toxicodynamiques ainsi que par l'application d'une composante toxicocinétique (ajustement allométrique AS) qui est dépendante de l'espèce étudiée mais indépendante des différences d'absorption (coefficients de partage air-sang). L'incidence numérique sur une différence de résultat entre VTR et DNEL est fréquent (la DNEL pouvant être plus conservatrice pour la santé ou non) mais pas systématique. Il convient de préciser que l'ajustement sur les coefficients de partage air-sang fait également l'objet de divergences pour l'élaboration de VTR "académiques" selon les différentes méthodologies : américaine (US EPA, ATSDR, OEHHA), internationale (OMS), européenne (ECB, 2006), nationale (AFSSET, 2007).
- **Les différences numériques ont été plus marquées pour la voie respiratoire.** Ceci s'explique par les conditions d'exposition des études sources, qui, d'une manière générale, ne correspondent pas à l'exposition de la population cible. L'ajustement de la dose critique est donc fréquent et la nature de l'ajustement VTR/DNEL diffère.
- Il a également été souligné que la proposition du TGD pour **le facteur d'incertitude liée à la durée de l'exposition** laisse envisager un **impact systématique** entre VTR et DNEL lorsqu'il sera appliqué : les valeurs recommandées (2 ou 6) sont différentes de celles utilisées pour les VTR (3 ou 10).

A noter que les études de cas ont été élaborées à partir des mêmes données sources que les VTR et qu'en situation réelle, les DNEL pourront être élaborées à partir d'études sources différentes et les divergences numériques avec les VTR pourront être accentuées. Toutefois, les études de cas ont également montré que les différences méthodologiques n'ont pas forcément d'impact numérique (exemple de l'ajustement de la dose critique sur les conditions d'exposition) et que la multiplication des différences méthodologiques n'a pas non plus nécessairement un impact plus conséquent sur la différence numérique VTR/DNEL puisque les influences peuvent s'annihiler.

Par ailleurs, selon les méthodologies considérées pour la comparaison (nationale, européenne, américaine, internationale), les divergences peuvent fluctuer en raison de l'intervention du jugement d'expert à plusieurs étapes de l'élaboration des DNEL ou des VTR " académiques ". Par exemple, le facteur d'incertitude lié à la qualité des données est lié à l'appréciation du degré de connaissance du profil toxicologique de la substance. Lorsque le profil toxicologique de la substance est connu (exemple du bore et la cinétique) et que les données sources utilisées sont identiques, les divergences numériques sont beaucoup plus limitées. L'exemple des effets hépatiques de l'hexachlorobenzène montre que la définition de l'effet critique et de la dose critique associée est déterminant dans le résultat final de la VTR et ou DNEL, quelque soit la méthodologie utilisée. Ainsi, il est important de retenir que d'une manière générale, la précision des valeurs de référence doit être appréciée par rapport à :

- La cohérence et la sélection des informations disponibles chez l'homme et l'animal,
- L'utilisation de ces données dans la construction des DNEL et des VTR, pour l'identification de la dose critique et l'application des facteurs d'ajustement et d'incertitude.

L'analyse de la relation dose-effet doit ainsi être considérée de manière fine et globale et ne peut reposer que sur l'analyse de la méthode de construction employée.

Ainsi, les justifications scientifiques pour l'extrapolation des données lors de l'établissement de VTR ou DNEL sont similaires et les méthodologies sont donc proches bien que l'intervention du jugement d'expert laisse place à des interprétations et des divergences possibles.

Considérant par ailleurs que le cadre d'établissement des DNELs est le règlement REACH, lequel requiert de consolider les informations disponibles pour les substances chimiques, les DNELs seront élaborées sur la base d'informations robustes et de profils toxicologiques plus complets et plus adaptés qu'auparavant pour l'identification des effets critiques, ce qui doit permettre de réduire les incertitudes liées à l'extrapolation de l'animal à l'homme par l'utilisation de données spécifiques. Les études de cas ont montré que l'utilisation de l'ensemble des informations disponibles sur le profil toxicologique d'une substance permet d'obtenir des DNELs plus affinées. Il apparaît donc justifié et pertinent de recommander l'établissement et l'utilisation de DNELs, en particulier lorsque le profil toxicologique d'une substance est connu (ses différents effets, sa cinétique notamment).

L'application de la méthodologie DNEL a par ailleurs permis d'identifier plusieurs faiblesses du TGD qui devrait être amélioré. L'étude de cas sur le bore a mis en évidence la nécessité d'améliorer la clarté du TGD sur l'utilisation des données toxicocinétiques et toxicodynamiques disponibles pour une substance donnée pour ajuster les composantes par défaut : facteur AS et facteur résiduel de 2,5. Dans l'ensemble des études cas par inhalation, l'ajustement sur les volumes respiratoires n'a pu être appliqué conformément aux recommandations du TGD et le facteur AS a du être appliqué par défaut. Il conviendrait donc également de préciser les différents volumes respiratoires en fonction des espèces. De plus, le TGD devrait être plus précis concernant la valeur à appliquer au facteur d'incertitude lié à la qualité des données.

5.6 REFERENCES

1. AFSSSET, 2007. Avis de l'Afsset relatif à la proposition d'une méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances toxiques sur la reproduction et le développement. Saisine Afsset N° 2003/AS03 et son document de référence, rapport du groupe d'experts "VTR reprotoxiques".
2. ATSDR, 1998. Toxicological Profile for Chloroethane. Agency for Toxic substances and Disease Registry: Research Triangle Institute.
3. Bonvallot N., Dor F. 2002. Valeurs Toxicologiques de Référence : méthodes d'élaboration, Institut de Veille Sanitaire, Département Santé Environnement, Unité Evaluation des Risques Sanitaires, Saint-Maurice, 2002, 84p. (<http://www.invs.sante.fr/publications/default.htm>)
4. Bunce NJ, Remillard RBJ. (2003) - Haber's rule: the search for quantitative relationships in toxicology. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9(4):973-985.
5. ECB, 2006. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Human Health Risk Characterisation. Revised Chapter, Final Draft. Ispra.
6. ECETOC, 2003. Derivation of assessment factors for human health risk assessment. Technical Report No. 86 (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals)- Brussels.
7. ECHA, 2008a. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, Chapter R.8 : Characterisation of dose [concentration]-response for human health. http://reach.jrc.it/guidance_en.htm
8. ECHA, 2008b. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, Chapter R.4: Evaluation of available information. http://reach.jrc.it/guidance_en.htm
9. ECHA, 2008c. Guidance on information requirements and chemical safety assessment, Chapter R.6: QSARs and grouping of chemicals. http://reach.jrc.it/guidance_en.htm
10. Falk-Filipsson A., Hanberg A., Victorin K., Warholm M., Wallén M. 2007. Assessment factors—Applications in health risk assessment of chemicals. *Environmental Research*, 104 (1), 108-127.
11. Gargas ML, Sweeney LM, Himmelstein MW et al., 2008. Physiologically based Pharmacokinetic Modeling of Chloroethane Disposition in Mice, Rats, and Women. *Toxicological Sciences* 104(1), 54-66 (2008).
12. IGHRC, 2006. Guidelines on route-to-route extrapolation of toxicity data when assessing health risks of chemicals. The Interdepartmental Group on Health Risks from Chemicals, <http://www.silsoe.cranfield.ac.uk /ieh/ighrc/ighrc.html>
13. IPCS, 1994. Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits. *Environmental Health Criteria* 170. International Programme on Chemical Safety, WHO/UNEP/ILO, World Health Organization, Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc170.htm>
14. Kalberlah F. and Schneider K. 1998. Quantification of extrapolation factors. Final report of the research project No. 116 06 113 of the Federal Environmental Agency. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Fb 797, Dortmund/Berlin.
15. Kalberlah F., Först, Schneider, 2002. Time extrapolation and interspecies extrapolation for locally acting substances in case of limited toxicological data. *Ann Occup Hyg* 46(2), 175-185.
16. KEMI, 2003. The Swedish National Chemicals Inspectorate. Human Health Risk Assessment: Proposals for the Use of Assessment (Uncertainty) Factors. Application to risk assessment for plant protection products, industrial chemicals and biocidal products within the European Union. Report n° 1/03. January, 2003. Stockholm.
17. Klimisch HJ, Andreae M, Tillmann U. 1997. A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*.;25(1):1-5.
18. NAS, 1983. National Academy of Sciences, Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health, Commission on Life Sciences, National Research Council. Washington, DC.
19. Renwick AG. 1999. Subdivision of uncertainty factors to allow for toxicokinetics and toxicodynamics, *Human and Ecological Risk Assessment*, 5 (5), 1035-1050.
20. Vermeire TG, Stevenson H, Pieters MN, Rennen M, Slob W and Hakkert BC. 1999. Assessment factors for human health risk assessment: a discussion paper. *Crit. Reviews Toxicol.* 29 (5), 439-490.
21. Vermeire T, Pieters M, Rennen M and Bos P, 2001. Probabilistic assessment factors for human health risk assessment - a practical guide. RIVM report 601516 005/TNO report V3489. National Institute of Public Health and the Environment (RIVM) (in cooperation with TNO Nutrition and Food Research), Bilthoven, The Netherlands.
22. WHO/IPCS, 2005. Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration-response assessment. IPCS Harmonization Project Document No. 2

5.7 LISTE DES ANNEXES

- 1 - Établissement DNEL pour les effets reprotoxiques de l'EGEE (110-80-5)
- 2 - Établissement DNEL pour les effets reprotoxiques du chloroethane (75-00-3)
- 3 - Établissement DNEL pour les effets reprotoxiques du bore (7440-42-8)
- 4 - Établissement DNEL pour les effets cancérrogènes du chloroforme (67-66-3)
- 5 - Établissement DNEL pour les effets systémiques et reprotoxiques de l'hexachlorobenzène (118-74-1)

ANNEXES

1. ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DE L'EGEE (110-80-5)	59
1.1 Toxicité de l'EGEE	59
1.2 Effets critiques (reproduction et développement)	60
1.2.1 Effets sur le développement	60
1.2.2 Effets sur la fertilité	60
1.3 Mécanismes d'action et cohérence des données animales et humaines	60
1.4 Construction des DNEL pour les effets sur le développement de l'EGEE	61
1.4.1 Etape a : Sélection des études clés et identification des doses critiques pour les effets sur le développement de l'EGEE	61
1.4.2 Etape b : Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée	62
1.4.3 Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent.	63
1.5 Discussion	65
1.5.1 Comparaison numérique	65
1.5.2 Comparaison méthodologique	66
1.6 Conclusion	69
1.7 Établissement de DNEL pour les effets sur la fertilité de l'EGEE	70
1.7.1 Etape a : Sélection des études clés et identification des doses critiques pour les effets sur la fertilité de l'EGEE	70
1.7.2 Etape b : Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée	71
1.7.3 Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent.	72
1.8 Discussion	75
1.8.1 Comparaison numérique	75
1.8.2 Comparaison méthodologique	76
1.9 Conclusion	79
1.10 Références	79
2. ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DU CHLOROETHANE (75-00-3)	81
2.1 Toxicité du Chloroéthane	81
2.2 Effets critiques (reproduction et développement)	82
2.3 Mécanisme d'action et cohérence des données animales et humaines	82
2.4 Construction des DNEL pour les effets sur le développement du Chloroéthane	83

2.4.1	Etape a: Sélection des études clés et identification des doses critiques pour les effets sur le développement du Chloroéthane	83
2.4.2	Etape b: Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée.....	85
2.4.3	Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent .	86
2.5	Discussion.....	90
2.5.1	Comparaison numérique	90
2.5.2	Comparaison méthodologique	92
2.6	Conclusion	94
2.7	References	95
3.	ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DU BORE (7440-42-8)	96
3.1	Bore et composés.....	96
3.2	Toxicité du Bore et de ses composés	96
3.3	Effets critiques (reproduction et développement)	97
3.3.1	Mécanisme d'action	97
3.4	Construction des DNEL pour les effets reprotoxiques par ingestion de Bore	98
3.4.1	Etape a: Sélection des études clés et identification des doses critiques pour les effets reprotoxiques du Bore	98
3.4.2	Etape b: Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée.....	101
3.4.3	Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent	102
3.5	Discussion.....	107
3.5.1	Comparaison numérique	107
3.5.2	Comparaison méthodologique	107
3.6	Conclusion	110
3.7	Références :.....	111
4.	ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS CANCEROGENES DU CHLOROFORME (67-66-3)	112
4.1	Introduction	112
4.2	Toxicité du Chloroforme	112
4.3	Effet cancérigènes et génotoxicité	112
4.3.1	Effets cancérigènes	112
4.3.2	Classification.....	114
4.3.3	Génotoxicité et mutagénicité	114
4.3.4	Mécanisme d'action	114
4.3.5	Cohérence des données animales et humaines	115

4.4	Construction des DNEL pour les effets cancérogènes du chloroforme	115
4.4.1	Etape a: Sélection des études clés et identification des doses critiques pour les effets cancérogènes du chloroforme.....	115
4.4.2	Etape b: Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée	117
4.4.3	Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent	119
4.5	Discussion	122
4.5.1	Comparaison numérique	122
4.5.2	Comparaison méthodologique	124
4.6	Conclusion	125
4.7	Références	126
5.	ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS SYSTEMIQUES ET REPROTOXIQUES DE L'HEXACHLOROBENZENE (118-74-1).....	127
5.1	Introduction	127
5.2	Toxicité de l'HCB.....	127
5.3	Effets critiques.....	128
5.3.1	Effets sur le développement	128
5.3.2	Effets sur la reproduction	129
5.3.3	Effets hépatiques	130
5.3.4	Mécanisme d'action.....	130
5.4	Construction des DNEL pour les effets hépatiques de l'hexachlorobenzène.....	131
5.4.1	Etape a: Sélection des études clés et identification des doses critiques.....	131
5.4.2	Etape b: Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée	133
5.4.3	Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent	133
5.5	Discussion	136
5.5.1	Comparaison numérique	136
5.5.2	Comparaison méthodologique	137
5.6	Conclusion	138
5.7	Construction des DNEL pour les effets sur le développement du HCB	138
5.7.1	Etape a: Sélection des études clés et identification des doses critiques pour les effets sur le développement du HCB.....	139
5.7.2	Etape b: Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée	140
5.7.3	Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent	141
5.8	Discussion	143
5.8.1	Comparaison numérique	143

5.8.2 Comparaison méthodologique	143
5.9 Conclusion	144
5.10 Construction des DNEL pour les effets sur la fertilité du HCB	144
5.10.1 Etape a: Sélection des études clés et identification des doses critiques pour les effets sur la fertilité du HCB	144
5.10.2 Etape b: Modification si besoin, de la dose critique pertinente pour l'effet considéré en une dose critique corrigée.....	146
5.10.3 Etape c : Application, si besoin, de facteurs d'incertitude à la dose critique corrigée pour obtenir la ou les DNEL pour un scénario d'exposition pertinent	147
5.11 Discussion.....	149
5.11.1 Comparaison numérique	149
5.11.2 Comparaison méthodologique	150
5.12 Conclusion	151
5.13 Références	151

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 27 : DOSE CRITIQUE DEFINIE POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'EGGE ET RETENUE POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL	62
TABLEAU 28 : CALCUL DE LA DNEL POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'EGEE	65
TABLEAU 29 : DNEL POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'EGEE.....	65
TABLEAU 30 : VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCE DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE	66
TABLEAU 31 : DOSE CRITIQUE POUR LES EFFETS SUR LA FERTILITE DE L'EGGE RETENUE POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL.....	71
TABLEAU 32 : CALCUL DE LA DNEL POUR L'EFFET SUR LA FERTILITE DE L'EGEE.....	74
TABLEAU 33 : SYNTHESE DE LA CONSTRUCTION DE LA DNEL DERIVEE.....	74
TABLEAU 34 : VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCE DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE	75
TABLEAU 35 : DOSE CRITIQUE DEFINIE POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DU CHLOROETHANE ET RETENUE POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL REPROTOXIQUES	84
TABLEAU 36 : CALCUL DE LA DNEL (CAS 1) POUR L'EFFET SUR LE DEVELOPPEMENT DU CHLOROETHANE A PARTIR DE L'ETUDE DE SCORTICHINI ET AL., 1986	88
TABLEAU 37 : CALCUL DE LA DNEL (CAS 2) POUR L'EFFET SUR LE DEVELOPPEMENT DU CHLOROETHANE A PARTIR DE L'ETUDE DE SCORTICHINI ET AL., 1986	89
TABLEAU 38 : SYNTHESE DE LA CONSTRUCTION DES DNEL DERIVEES	90
TABLEAU 39 : VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCE DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE.....	91
TABLEAU 40 : DOSES CRITIQUES DEFINIES POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DU BORE ET RETENUES POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL	101
TABLEAU 41 : CALCUL DES DNEL POPULATION GENERALE POUR L'EFFET SUR LE DEVELOPPEMENT DU BORE	106
TABLEAU 42 : SYNTHESE DE LA CONSTRUCTION DES DNEL DERIVEES	106
TABLEAU 43 : VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCE DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE.....	107
TABLEAU 44 : INCIDENCE DES TUMEURS CHEZ LES SOURIS ET RATS EXPOSES 104 SEMAINES AU CHLOROFORME PAR INHALATION ; RESULTATS DE L'ETUDE DE NAGANO ET AL., 1998	117
TABLEAU 45 : DOSE CRITIQUE DEFINIE POUR LES EFFETS CANCEROGENES DU CHLOROFORME ET RETENUE POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL	117
TABLEAU 46 : CALCUL DE LA DNEL POUR L'EFFET CANCEROGENE DU CHLOROFORME	121
TABLEAU 47 : SYNTHESE DE LA CONSTRUCTION DE LA DNEL DERIVEE.....	121
TABLEAU 48 : VTR INERIS (2006) DISPONIBLE POUR LES EFFETS CANCEROGENES DU CHLOROFORME	122
TABLEAU 49 : VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCE DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE POUR LES EFFETS A SEUIL NON CANCEROGENES.....	123
TABLEAU 50 : DOSE CRITIQUE DEFINIE POUR LES EFFETS HEPATIQUES DE HCB ET RETENUE POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL.....	133
TABLEAU 51 : CALCUL DE LA DNEL POPULATION GENERALE POUR	135
TABLEAU 52 : SYNTHESE DE LA CONSTRUCTION DE LA DNEL DERIVEE.....	136
TABLEAU 53 : VALEURS TOXICOLOGIQUES DE REFERENCE DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE	136
TABLEAU 54 : DOSE CRITIQUE DEFINIE POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DE HCB ET RETENUE POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL	140
TABLEAU 55 : CALCUL DES DNEL POPULATIONS GENERALES POUR L'EFFET SUR LE DEVELOPPEMENT DU HCB.....	142
TABLEAU 56 : SYNTHESE DE LA CONSTRUCTION DE LA DNEL DERIVEE.....	142
TABLEAU 57 : VALEUR TOXICOLOGIQUE DE REFERENCE DISPONIBLE DANS LA LITTERATURE (ATSDR).....	143

TABLEAU 58 : DOSE CRITIQUE DEFINIE POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DE HCB ET RETENUE POUR L'ELABORATION DES VTR/DNEL.....	146
TABLEAU 59 : CALCUL DE LA DNEL POPULATION GENERALE POUR L'EFFET SUR LA FERTILITE DU HCB	148
TABLEAU 60 : SYNTHESE DE LA CONSTRUCTION DE LA DNEL DERIVEE	149
TABLEAU 61 : VALEUR TOXICOLOGIQUE DE REFERENCE DISPONIBLES DANS LA LITTERATURE (ATSDR).....	149

1. ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DE L'EGEE (110-80-5)

Les différentes étapes de la construction de DNEL pour les effets reprotoxiques de l'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE) selon la méthodologie décrite dans le TGD (ECHA, 2008) sont présentées ci-dessous.

1.1 TOXICITE DE L'EGEE

Les principaux symptômes induits après une exposition par inhalation à doses répétées à des concentrations élevées d'EGEE (1450 mg/m³, 7 à 90 jours) chez le rat et le lapin sont des effets néfastes sur le système hématopoïétique, le système nerveux central, le foie, les reins, le thymus, les poumons et les testicules. A de plus faibles doses (< 1450 mg/m³), les effets délétères observés concernent particulièrement le système hématopoïétique et les testicules. Aucune étude à long terme (> 3 mois) n'est disponible. L'EGEE est également tératogène chez le rat (250 ppm - 920 mg/m³) et le lapin (175 ppm - 645 mg/m³), mais aucune donnée étudiant ce type d'effet n'est disponible chez l'homme.

Les travaux de recherche bibliographique menés par Doornaert (2006) dans le cadre du groupe de travail « VTR reprotoxiques » de l'AFSSET montrent que les effets critiques de l'EGEE sont des effets sur la reproduction chez l'homme et des effets sur la reproduction et le développement chez l'animal. L'organe cible après une exposition par inhalation chez l'homme est le testicule (Ratcliffe *et al.*, 1989 et Welch *et al.*, 1988). Un effet sur la fertilité masculine est observé et démontré aussi bien chez l'animal que chez l'homme ; un effet sur le développement est uniquement constaté chez l'animal. En raison du manque d'études chez l'homme, ce dernier effet a été retenu par principe de précaution, pour protéger la femme enceinte. De plus, des données d'exposition montrent que la voie majoritaire d'exposition chez l'homme se fait par l'inhalation (64 % pour les hommes sédentaires). Ces différentes informations mettent en évidence qu'il est pertinent de proposer des VTR ou des DNEL reprotoxiques pour l'EGEE après une exposition par inhalation.

1.2 EFFETS CRITIQUES (REPRODUCTION ET DEVELOPPEMENT)

1.2.1 EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT

L'EGEE et son métabolite principal, l'acide 2-éthoxyacétique (2-EAA), sont tératogènes chez le rat et le lapin, quelle que soit la voie d'exposition. Une toxicité fœtale marquée accompagnée d'une forte incidence de malformations et de retard de développement ont été observés malgré une absence de toxicité maternelle chez des rates soumises à une application dermique d'EGEE ou de 2-EAA.

1.2.2 EFFETS SUR LA FERTILITE

Une diminution de la fertilité est observée chez les rongeurs. Une augmentation de mort intra-utérine est observée chez les femelles. Chez les mâles, les principaux effets observés sont une toxicité testiculaire qui se manifeste par : une dégénérescence des tubules séminifères et une diminution du poids testiculaire, une augmentation des spermatozoïdes anormaux et des azoospermies.

Chez l'homme, peu d'informations sont disponibles. Les effets néfastes de l'EGEE observés sont semblables à ceux identifiés chez l'animal. Les principaux effets toxiques observés sont des effets sur les testicules se manifestant par une diminution du volume du liquide séminal et de la concentration en spermatozoïdes ainsi que par une augmentation des oligospermies et des spermatozoïdes anormaux, pour des concentrations comprises entre 2,6 (9,6 mg/m³) et 21,5 ppm (79 mg/m³); ou des modifications hématologiques (Ratcliffe *et al.*, 1989 et Welch *et al.*, 1988). D'autres effets peuvent être observés tels que : vertiges, perte de connaissance, acidose métabolique et insuffisance rénale. La plupart de ces symptômes s'observe aussi bien après une exposition de courte durée qu'une exposition de longue durée et est réversible.

1.3 MECANISMES D'ACTION ET COHERENCE DES DONNEES ANIMALES ET HUMAINES

Les études mécanistiques chez l'homme indiquent que la toxicité sur la fertilité (toxicité testiculaire) est due au principal métabolite de l'EGEE (le 2-EAA) produit par l'alcool déshydrogénase puis par l'aldéhyde déshydrogénase.

Chez l'animal, les mécanismes d'action sont imparfaitement connus. Les études *in vivo* et *in vitro* suggèrent que la toxicité de l'EGEE est due à ses métabolites dont le principal est le 2-EAA. Concernant l'effet sur la fertilité, Foster *et al.* (1983) ont montré que la première lésion visible au niveau des spermatozoïdes pachytènes se situe au niveau des mitochondries. Le 2-EAA agit lors de la division méiotique des spermatocytes (Inserm, 1999, 2006).

Cohérence des données animales et humaines

L'effet reprotoxique, par rapport aux autres effets systémiques, apparaît comme un effet critique aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Les mécanismes d'action de l'EGEE entre l'animal et l'homme sont relativement similaires et la toxicocinétique entre ces deux espèces semble être proche. De plus, la formation d'acide 2-éthoxyacétique est responsable des effets toxiques (altération de la prolifération cellulaire) sur le testicule (animal et homme) et chez le fœtus (animal). En l'absence de

données humaines permettant de définir un NOAEL ou LOAEL sans co-exposition, les données expérimentales animales sont utilisées et transposées à l'homme.

1.4 CONSTRUCTION DES DNEL POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'EGEE

1.4.1 ETAPE A : SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DE L'EGEE

L'analyse des études disponibles (Doornaert, 2006) menée à partir des mêmes critères de sélection des études que ceux définis dans le TGD (ECHA, 2008), a permis d'identifier l'étude de Doe (1984) de cotation de Klimisch 2.e retenue pour l'élaboration des DNEL pour les effets sur le développement de l'EGEE. Le NOAEC est de 50 ppm (184 mg/m³) élaboré à partir de l'étude de Doe (1984) pour des effets de l'EGEE sur le développement chez le lapin après une exposition sub-aiguë (14 jours).

Etude de Doe, 1984.

- ✓ **Espèce étudiée** : lapins femelles Dutch (ainsi que des rats femelles Alpk/AP mais les détails ne seront pas rapportés ici).
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 24 par lot.
- ✓ **Voie d'exposition** : Inhalation.
- ✓ **Temps et fréquence d'exposition** : Jours 6 à 19 de la gestation, 6h/j.
- ✓ **Doses ou concentrations d'exposition** : 10, 50, 175 ppm (36,9 - 184 - 644 mg/m³).
- ✓ **Groupe témoin** : oui, 24 lapins.
- ✓ **Résultats / Effets observés** : Aucune toxicité maternelle n'a été mise en évidence. Foëto-toxicité : défaut cardiovasculaire, défaut de la paroi abdominale, défauts squelettiques mineurs, côtes rudimentaires surnuméraires et apparition de côtes d'une longueur supérieure à la normale. Ces effets sont significatifs à 175 ppm.
- ✓ **Relation dose-réponse, possibilité de déterminer une NOAEC** : le NOAEC a été établi à 50 ppm (LOAEC :175 ppm).
- ✓ Le tableau 1 résume l'étude de Doe (1984) ayant permis de proposer une NOAEC pour les effets sur le développement de l'EGEE.

Tableau 27 : Dose critique définie pour les effets sur le développement de l'EGGE et retenue pour l'élaboration des VTR/DNEL

Etude retenue	NOAEC établis	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Doe, 1984	NOAEC : 50 ppm (184 mg/m ³)	6h/j du 6 ^{ème} au 19 ^{ème} jour	Effet sur le développement - Fœto-toxicité : Défaut cardiovasculaire, défaut de la paroi abdominale, défauts squelettiques mineurs, côtes rudimentaires surnuméraires et apparition de côtes d'une longueur supérieure à la normale. (effets significatifs à 175 ppm.)	Lapins femelles (Dutch)

1.4.2 ETAPE B : MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACH, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

1.4.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Pour l'inhalation, l'absorption de la substance est exprimée par le coefficient de partage sang - air. Or, les coefficients de partage sang- air animal/homme ne sont pas disponibles pour l'EGEE. Le rapport de ces coefficients animal/homme a été considéré par défaut égal à 1.

1.4.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

1.4.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Dans l'étude retenue pour les effets sur le développement, des lapins femelles Dutch sont exposées par inhalation, 6h/j à partir du 6^{ème} jour jusqu'au 19^{ème} jour de gestation.

Lorsque les conditions expérimentales chez l'animal diffèrent des conditions envisagées chez la population cible, le TGD indique qu'il convient d'ajuster les données toxicologiques en fonction du temps par l'application de la loi de Haber simplifiée (Haber, 1924). Cet ajustement linéaire est considéré valide lorsque l'effet toxique est induit par la dose totale (cumulée) ou s'il dépend à la fois de la dose cumulée et de la concentration d'exposition. En outre, il est inadapté lorsque l'effet toxique est dépendant prioritairement de la concentration d'exposition. Les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (fenêtre de sensibilité) aussi l'ajustement sur les conditions d'exposition n'est pas approprié pour l'établissement de DNELs pour les effets sur le développement. Aucun ajustement n'a été effectué.

1.4.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

D'après le TGD, les taux respiratoires dépendant de la demande calorique, un ajustement sur les volumes respiratoires correspond à un ajustement sur le taux métabolique, en d'autres termes à l'ajustement allométrique. Toutefois, le TGD ne donne pas le volume respiratoire du lapin donc la dose critique n'est pas ajustée sur les volumes respiratoires. L'ajustement allométrique sera pris en compte lors de l'application du facteur d'incertitude inter-espèces (facteur AS).

Par ailleurs, les différences de volumes respiratoires liées à l'activité physique des travailleurs ne sont pas prises en compte pour l'ajustement allométrique. Ainsi, un ajustement de la dose critique est nécessaire pour les travailleurs prenant en compte le volume respiratoire en activité (10m^3) et celui au repos ($6,7\text{m}^3$) : un facteur égal à 0,67 ($= 6,7\text{m}^3/10\text{m}^3$) est appliqué à la dose critique.

Calcul de la dose critique corrigée :

- **Pour la population générale exposée par inhalation pendant 24h/j**

NOAEC corrigé= NOAEC inhalation = 184 mg/m^3

- **Pour des travailleurs exposés pendant 8h/j**

$6,7\text{ m}^3(8\text{h})$

$$\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = \text{NOAEC}_{\text{inhalation}} \times \frac{6,7\text{ m}^3(8\text{h})}{10\text{ m}^3(8\text{h})}$$

Soit $\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = 180 \times 6,7/10 = 123\text{ mg/m}^3$

1.4.3 ETAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

1.4.3.1 EXTRAPOLATION INTER ESPECES

D'après les recommandations du TGD, comme la dose critique corrigée a déjà été ajustée sur le principe de l'ajustement allométrique (la concentration inhalée a été préalablement ajustée par rapport aux volumes respiratoires), le facteur d'ajustement allométrique (AS) ne s'applique pas. Cependant, comme il s'agit d'une étude chez le lapin et que le volume respiratoire du lapin n'est pas indiqué dans le TGD, l'ajustement allométrique n'a pas été effectué à l'étape b et doit être pris en compte ici : le facteur AS est appliqué. En conséquence, les facteurs d'incertitude liés aux variations inter-espèces appliqués par défaut sont les suivants :

- Le facteur AS pour l'espèce testée (le lapin) est égal à 2,4
- Un facteur pour les différences résiduelles égal à 2,5

Soit un facteur d'incertitude lié aux variations inter-espèces d'une valeur de 6 ($= 2,4 \times 2,5$).

1.4.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

En raison du manque de données concernant la variabilité de la population humaine vis à vis de l'EGEE, les facteurs d'incertitude appliqués par défaut sont les suivants :

- pour la population générale : 10
- pour les travailleurs : 5

1.4.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La durée d'exposition dans l'étude de Doe (1984) est de 14 jours pendant la gestation mais les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (à un moment critique). La DNEL dérivée de la NOAEC issue de cette étude sera donc de type aigu et applicable pour les femmes enceintes ou en âge de procréer. De ce fait, il n'est pas nécessaire d'appliquer un facteur d'incertitude pour l'inadéquation de la durée d'exposition de l'étude expérimentale utilisée (AF = 1).

1.4.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Une NOAEC a été mise en évidence dans l'étude retenue. De ce fait, ce facteur d'incertitude ne s'applique pas.

1.4.3.5 QUALITE DES DONNEES

L'étude de Doe (1984) appartient à la catégorie 2.e selon la cotation de Klimisch, le potentiel reprotoxique de l'EGEE est bien établi : différentes études chez le rat et le lapin ont mis en évidence des effets sur le développement en absence de toxicité maternelle. Aucun facteur d'incertitude n'est ainsi appliqué.

1.4.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global appliqué à la dose critique corrigée est égal à 60 (= $2,4 \times 2,5 \times 10$) pour la population générale et à 30 (= $2,4 \times 2,5 \times 5 \times 2$) pour des travailleurs.

Le calcul de la DNEL pour les effets sur le développement de l'EGEE est présenté dans le tableau 2. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 3.

Tableau 28 : Calcul de la DNEL pour les effets sur le développement de l'EGEE

<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>		
Dose critique retenue	NOAEC = 184 mg/m ³	NOAEC = 184 mg/m ³
<i>Etape b : Modification de la dose critique</i>		
	Population générale	Travailleurs
Facteurs d'ajustements		
Différences d'absorption animal / homme		
Ajustement de la voie d'exposition		
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)		
Ajustement des volumes respiratoires		
		6,7/10
NOAEC corrigée = NOAEC inhalation × facteurs d'ajustement	184 mg/m ³	123,3 mg/m ³
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>		
	Population générale	Travailleurs
Facteurs d'incertitude		
Extrapolation inter espèces		
	2,4 × 2,5	2,4 × 2,5
Variabilité intra espèces		
	10	5
Transposition de durée d'exposition		
	1	1
Relation dose réponse		
	1	1
Qualité des données		
	1	1
Facteur d'incertitude global		
	60	30
Calcul de la DNEL		
	= 184 / 60 = 3,07 mg/m ³	= 123,3 / 30 = 4,11 mg/m ³

Tableau 29 : DNEL pour les effets sur le développement de l'EGEE

Effet	Voie et durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude utilisée
Effet sur le développement - Foëto-toxicité	Inhalation	Population générale : DNEL= 3 mg/m ³	NOAEC = 184 mg/m ³ (50 ppm) Pas de correction de la dose critique (effets sur le développement)	Population générale : 60 = 2,4 × 2,5 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	Doe, 1984
	Exposition aiguë (24 h)	Travailleurs : DNEL= 4 mg/m ³		Travailleurs : 30 = 2,4 × 2,5 (Inter-espèce) × 5 (Intra-espèce)	

1.5 DISCUSSION

1.5.1 COMPARAISON NUMERIQUE

Les DNEL calculées dans l'étude de cas pour les effets sur le développement de l'EGEE sont comparées aux VTR "académiques" existantes. Parmi les 6 bases consultées

proposant des VTR (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), les VTR disponibles concernent les effets sur la fertilité. Néanmoins, le groupe d'experts national sur les VTR reprotoxiques (coordonné par l'AFSSET) a établi une VTR pour les effets sur le développement, à partir de l'analyse bibliographique effectuée par Doornaert (2006), qui est présentée dans le tableau 4.

Tableau 30 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature

Organisme (année)	Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
AFSSET (2007)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Inhalation - Aiguë (24 h)	VTR = 1,84 mg/m ³	NOAEC = 184 mg/m ³ (50 ppm)	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	Doe <i>et al.</i> , 1984

Les VTR "académiques" sont élaborées pour la population générale. Ainsi, seule la DNEL élaborée pour la population générale est comparée à la VTR. La DNEL est supérieure d'un facteur 1,7 à la VTR AFSSET.

1.5.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

Cette comparaison méthodologique repose sur l'analyse des étapes de modification de la dose critique en une DNEL ou une VTR pour les effets reprotoxiques de l'EGEE. Elle devrait ainsi permettre d'identifier les sources potentielles de la divergence numérique constatée ci-dessus.

1.5.2.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

L'étude de Doe (1984) a été retenue à la fois pour l'élaboration de la DNEL et de la VTR proposée par l'AFSSET pour les effets sur le développement de l'EGEE. En conséquence, les données d'entrée qui ont été utilisées pour élaborer les VTR "académiques" et la DNEL pour les effets reprotoxiques de l'EGEE sont identiques.

1.5.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

1.5.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ANIMAL-HOMME

Pour l'inhalation, l'absorption de la substance est exprimée par le coefficient de partage sang - air. Ces différences de biodisponibilité ne sont pas prises en compte dans la méthodologie du groupe d'experts publiée par l'AFSSET, celles-ci étant intégrées dans le concept d'ajustement allométrique, lequel n'est pas recommandé par le groupe d'experts (AFSSET, 2007).

La notion d'ajustement allométrique est définie dans le TGD : il s'agit d'un ajustement sur le poids corporel qui permet de comparer la toxicité entre l'animal et l'homme à échelle de taille équivalente, reposant sur l'hypothèse que différentes espèces auraient la même sensibilité à une dose donnée par unité de poids corporel. Il semble que cette

définition n'englobe pas toutes les notions telles que celles avancées par la méthodologie de l'AFSSET : différences de cinétique et de métabolisme d'une substance entre espèces, parfois reflétées par l'application d'un coefficient d'ajustement tenant compte, pour une exposition orale, de la surface corporelle (paramètre physiologique propre à chaque espèce), et, pour une exposition respiratoire, du taux d'inhalation (paramètre physiologique) et des coefficients de partage entre l'air et le sang (paramètres physicochimiques liés à la substance). L'homme est considéré comme plus sensible que l'animal aux variations allométriques près. L'impact numérique pour cet aspect est nul dans le cas de l'EGEE car les coefficients de partage entre l'air et le sang de l'EGEE chez les deux espèces ne sont pas connus et que l'ajustement n'a en conséquence pas pu être effectué pour la DNEL.

1.5.2.2.2 AJUSTEMENT SUR LES CONDITIONS D'EXPOSITION

Dans le cas des effets sur le développement, les méthodologies nationale et européenne sont en accord pour ne pas ajuster sur la durée d'exposition mais les raisons sont divergentes.

Selon la méthodologie DNEL, l'ajustement sur les conditions d'exposition par l'application de la loi de Haber simplifiée (Haber, 1924) n'est pas approprié pour l'établissement de DNELs pour les effets sur le développement. Cette hypothèse est également appliquée par différents organismes pour l'élaboration de VTR comme l'US EPA (US EPA, 1991). Selon la proposition de méthodologie nationale développée par le groupe d'experts sur les VTR reprotoxiques, les ajustements sur les conditions d'exposition ne sont pas recommandés car nécessitent une réflexion pour mieux comprendre les possibilités et la justification scientifique de cet ajustement. L'accent est en effet mis sur le fait que *"les fondements toxicologiques de cet ajustement ne sont pas toujours compris voire opposés au principe d'effet à seuil de dose"*, soulignant le fait que certains auteurs émettent des réserves quant à sa validité pour tous les types de substances (Bunce et Remillard, 2003)⁸.

1.5.2.2.3 AJUSTEMENT SUR LES VOLUMES RESPIRATOIRES

La méthodologie DNEL recommande l'ajustement allométrique sur la base des volumes respiratoires ce qui n'est pas le cas de l'approche VTR. Cependant, en l'absence de valeur pour le volume respiratoire chez le lapin, il n'a pas été effectué ici.

1.5.2.3 FACTEURS D'INCERTITUDE

1.5.2.3.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

Un facteur d'incertitude inter-espèces (UF_A) égal à 10 a été appliqué par le groupe d'experts de l'AFSSET. La valeur de 10 repose sur des considérations de toxicocinétique et de toxicodynamie. Renwick (1999) a identifié cette valeur de 10 comme résultant de l'application de ces deux composantes égales à 4 et 2,5, respectivement. Ces deux composantes ont été proposées pour permettre de séparer les considérations toxicocinétiques et dynamiques afin de les étudier séparément lorsque des données sont

⁸ A noter cependant qu'ils peuvent être appliqués, voir le cas des effets sur la fertilité de l'EGEE (§ 1.8.2).

disponibles pour l'une ou l'autre (IPCS, 1994 - WHO, 2005). Dans le cas de l'EGEE, aucune donnée ne permet d'affiner ces composantes.

Le facteur d'incertitude inter-espèces pour la DNEL est de 6. Dans l'établissement des DNEL par inhalation, l'incertitude liée à l'extrapolation inter-espèces est prise en considération par l'application du facteur de 2,5 pour les incertitudes liées à la toxicodynamie (et les différences de cinétique non prises en compte par l'ajustement allométrique). Par ailleurs, dans le cas de l'EGEE, le facteur d'ajustement allométrique (AS=2,4 chez le lapin) a été appliqué car la dose critique n'a pas été ajustée sur les volumes respiratoires à l'étape b, le TGD ne donnant pas l'information. L'ajustement allométrique (par l'intermédiaire du facteur AS ou de l'ajustement sur les volumes respiratoires) est dépendant de l'espèce étudiée. Ici, l'étude source étant menée chez le lapin, le facteur AS est de 2,4 et le facteur inter-espèces est de 6. Ce dernier aurait été équivalent à celui de la VTR (10) dans le cas d'une étude menée chez le rat (AS=4). D'après la littérature, trois méthodes sont disponibles pour calculer le facteur AS : l'extrapolation fondée sur le poids corporel, la surface corporelle ou les besoins énergétiques. Les extrapolations sur la base des besoins énergétiques ou de la surface corporelle sont considérées comme plus appropriées que l'extrapolation à partir du poids corporel (Vermeire *et al.*, 1999). L'extrapolation sur la base des besoins énergétiques est la méthode la plus couramment rapportée pour l'extrapolation inter-espèces (ECETOC⁹, 2003 ; TNO¹⁰ cité dans Vermeire *et al.*, 1999). Différents organismes scientifiques tels que TNO (cité dans Vermeire *et al.*, 1999) et l'ECETOC (2003) recommandent également l'application de ce facteur AS. En outre, pour les incertitudes résiduelles, TNO (Vermeire *et al.* 1999, 2001) suggère un facteur égal à 3 alors que l'ECETOC (2003) ne le suggère pas. La méthode DNEL est donc en accord avec les principes scientifiques pour l'extrapolation inter-espèces mais la subdivision appliquée (facteur allométrique AS et facteur résiduel 2,5) lui est propre.

Les méthodologies proposées pour les VTR académiques ou pour les DNEL sont ainsi scientifiquement justifiées mais différentes. Il est important de retenir que dans les différentes méthodologies, le facteur d'incertitude lié à la variabilité inter-espèces est subdivisé en deux composantes toxicocinétique et toxicodynamique mais que cette subdivision et la composante toxicocinétique reposent sur des hypothèses distinctes :

- Pour les VTR "académiques", la composante toxicocinétique du facteur d'extrapolation inter-espèces est indépendante de l'espèce ;
- Pour les DNELs, la composante toxicocinétique est essentiellement prise en compte par l'ajustement allométrique qui est dépendant de l'espèce étudiée.

Ainsi, dans le cas de l'EGEE et des effets sur le développement, la différence numérique constatée est liée à l'utilisation d'une étude chez le lapin et à l'application du facteur AS dépendant de l'espèce.

1.5.2.3.2 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur classiquement retenu pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu à la fois pour l'élaboration de la VTR AFSSET et de la DNEL. Ce facteur se subdivise en deux facteurs de 3,16 pour les différences toxicocinétiques et toxicodynamiques.

De nombreuses valeurs ont été proposées pour ce facteur. Le KEMI (Swedish Chemical Inspectorate, 2003) et Falk-Filipsson *et al* (2007) estiment qu'un facteur inter-individuel

⁹ ECETOC: European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals

¹⁰ TNO: Netherlands Organisation for Applied Scientific Research

de 3,16 ne serait pas approprié pour tenir compte de la variabilité toxicocinétique entre les individus (population adulte saine). Falk-Filipsson *et al.* (2007) suggèrent d'utiliser un facteur de 4,5 au minimum pour la toxicocinétique et d'appliquer la valeur par défaut de 3,2 pour la toxicodynamie. Les connaissances disponibles sur la toxicodynamie sont, à ce jour, insuffisantes pour proposer une alternative à la valeur utilisée par défaut. En conclusion, ils proposent l'application d'un facteur total de 15 comme minimum, en précisant qu'il ne couvre pas l'ensemble des sous-populations sensibles : femmes enceintes, nouveaux nés, personnes âgées, malades (foie, rein). Ils suggèrent, lorsque les données sont insuffisantes pour évaluer la susceptibilité des enfants et des fœtus, qu'un facteur de sécurité supplémentaire (de 1 à 10) soit appliqué. On peut donc supposer que les facteurs retenus dans les différentes approches sont insuffisants pour couvrir l'ensemble des sous-populations identifiées comme à risque. Néanmoins, il est difficile d'identifier ou de se positionner sur un facteur qui couvrirait 100% de la population et Kalberlah et Schneider (1998) ont montré que le facteur de 10 couvrirait plus de 99% de la population adulte saine. Bien que controversé, la valeur de 10 a été retenue dans le TGD pour l'établissement des DNEL pour la population générale et un facteur plus faible (égal à 5) pour les travailleurs.

1.5.2.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

Cette transposition n'est pas effectuée dans le cas d'effets sur le développement, ni selon la méthodologie européenne, ni selon l'AFSSET.

1.6 CONCLUSION

La différence numérique entre VTR et DNEL (facteur 1,7) repose sur le facteur d'incertitude inter-espèces. Celui-ci est différent notamment en raison de l'ajustement allométrique qui varie avec l'espèce étudiée, ici le lapin.

Dans les différentes méthodologies, le facteur d'incertitude lié à la variabilité inter-espèces est subdivisé en deux composantes toxicocinétique et toxicodynamique mais cette subdivision et la composante toxicocinétique reposent sur des hypothèses distinctes :

- Pour les VTR "académiques", la composante toxicocinétique du facteur d'extrapolation inter-espèces est indépendante de l'espèce ;
- Pour les DNELs, la composante toxicocinétique est essentiellement prise en compte par l'ajustement allométrique qui est dépendant de l'espèce étudiée.

Cette différence sur l'ajustement allométrique est un élément clé à l'origine de la différence numérique et méthodologique entre VTR et DNEL. Cette étude de cas a mis ainsi en évidence que les facteurs peuvent être différents même lorsque les motivations sont identiques comme c'est le cas du facteur d'incertitude inter-espèces qui est appliqué pour couvrir les différences de sensibilité entre l'animal et l'homme sur la base de considérations de toxicocinétique et de toxicodynamie.

Par ailleurs, cet exemple a également souligné que les différences méthodologiques n'ont pas forcément d'impact numérique. Par exemple, aucun ajustement de la dose critique n'a été effectué bien que les animaux aient été exposés 5 j/semaine et 6 h/j. Selon la méthodologie européenne, l'ajustement sur les conditions d'exposition par l'application de la loi de Haber simplifiée (Haber, 1924) n'est pas approprié pour l'établissement de DNELs pour les effets sur le développement. Selon la proposition de méthodologie nationale développée par le groupe d'experts sur les VTR reprotoxiques,

les ajustements sur les conditions d'exposition ne sont pas recommandés car nécessitent une réflexion pour mieux comprendre les possibilités et la justification scientifique de cet ajustement¹¹.

1.7 ÉTABLISSEMENT DE DNEL POUR LES EFFETS SUR LA FERTILITE DE L'EGEE

1.7.1 ETAPE A : SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES POUR LES EFFETS SUR LA FERTILITE DE L'EGEE

L'analyse des études disponibles (Doornaert, 2006) menée à partir des mêmes critères de sélection des études que ceux définis dans le TGD (2008), a permis de retenir l'étude de Barbee *et al.* (1984) de cotation de Klimisch 2.e pour l'élaboration d'une DNEL pour les effets sur la fertilité de l'EGEE. La NOAEC est de 103 ppm (380 mg/m³) pour des effets sur les testicules de lapins mâles après une exposition sub-chronique.

Etude de Barbee *et al.*, 1984.

- ✓ **Espèce étudiée** : lapins New Zealand White (ainsi que des rats Sprague Dawley mais les détails ne seront pas rapportés ici).
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 10/sexe/groupe.
- ✓ **Voie d'exposition** : Inhalation - vapeur.
- ✓ **Temps et fréquence d'exposition** : 13 semaines, 6h/j.
- ✓ **Doses ou concentrations d'exposition** : 25, 100, 400 ppm (92,5 -390 et 1480 mg/m³) en concentration nominale et 25 - 103 - 403 ppm en concentration analytique.
- ✓ **Groupe témoin** : oui, 10 lapins par sexe (exposés à l'air).
- ✓ **Résultats / Effets observés** : Une diminution significative du poids corporel chez les 2 sexes a été observée à 25 et à 403 ppm mais pas à 103 ppm et une diminution significative du poids testiculaire à 403 ppm. Une dégénérescence focale minime à légère de l'épithélium des tubules séminifères (3/10) sans altération de la spermatogénèse a été rapportée à 403 ppm. Par ailleurs, une anémie périphérique a été observée à 403 ppm.
- ✓ **Relation dose-réponse, possibilité de déterminer une NOAEC** : la NOAEC pour les effets reprotoxiques (diminution du poids des testicules et dégénérescence focale légère de l'épithélium des tubules séminifères) : 103 ppm (soit 380 mg/m³) et LOAEC à 403 ppm).
- ✓ Le tableau 5 résume l'étude de Barbee *et al.* (1984) ayant permis de proposer une NOAEC pour les effets sur la fertilité de l'EGEE.

¹¹ A noter cependant qu'ils peuvent être appliqués, voir le cas des effets sur la fertilité de l'EGEE (§ 1.8.2)

Tableau 31 : Dose critique pour les effets sur la fertilité de l'EGGE retenue pour l'élaboration des VTR/DNEL

Étude retenue	NOAEC établies	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Barbee <i>et al.</i> , 1984	NOAEC : 103 ppm (380 mg/m ³)	Inhalation 6h/j, 5 j par semaine pendant 13 semaines	Effet sur la reproduction : fertilité : Diminution significative du poids testiculaire et dégénérescence focale minime à légère de l'épithélium des tubules séminifères sans altération de la spermatogénèse. Autres effets : anémie périphérique sans altération centrale (absence d'atteinte de l'érythropoïèse), avec augmentation de l'élimination des érythrocytes circulants à 403 ppm.	Lapins mâles et femelles (New Zealand White)

1.7.2 ETAPE B : MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACH, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

1.7.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Pour l'inhalation, l'absorption de la substance est exprimée par le coefficient de partage sang - air. Or, les coefficients de partage sang- air animal/homme ne sont pas disponibles pour l'EGEE. Le rapport de ces coefficients animal/homme a été considéré par défaut égal à 1.

1.7.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

1.7.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Lorsque les conditions expérimentales chez l'animal diffèrent des conditions envisagées chez la population cible, le TGD indique qu'il convient d'ajuster les doses d'exposition lorsque l'effet toxique est induit par la dose totale (cumulée) ou s'il dépend à la fois de la dose cumulée et de la concentration d'exposition. L'étude retenue fournit une NOAEC (380 mg/m³) issue d'une étude par inhalation chez le lapin exposé 6h/j, 5j/semaine. La NOAEC doit être ajustée pour une exposition de 24h/24, 7j/7 pour la population générale et de 8h/24 et 5j/7 pour les travailleurs au lieu de 6h/24, 5j/7. La dose critique doit être corrigée par un facteur de 0,75 (= 6/8) pour des travailleurs et

par un facteur de 0,18 (= 6/24 × 5/7) pour la population générale exposée via l'environnement.

1.7.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

D'après le TGD, comme les taux respiratoires dépendent de la demande calorique, un ajustement sur les volumes respiratoires correspond à un ajustement sur le taux métabolique, en d'autres termes à l'ajustement allométrique. Toutefois, le TGD ne donne pas le volume respiratoire du lapin donc la dose critique n'est pas ajustée sur les volumes respiratoires. L'ajustement allométrique sera pris en compte lors de l'application du facteur d'incertitude inter-espèces (facteur AS).

Par ailleurs, les différences de volumes respiratoires liées à l'activité physique des travailleurs ne sont pas prises en compte par l'ajustement allométrique. Ainsi, un ajustement de la dose critique est nécessaire pour les travailleurs avec un volume respiratoire en activité (10 m³) et celui au repos (6,7 m³) : un facteur égal à 0,67 (= 6,7m³/10m³) est appliqué à la dose critique.

Calcul de la dose critique corrigée :

- **Pour la population générale exposée par inhalation pendant 24h/j**

$$\text{NOAEC corrigé} = \text{NOAEC inhalation} \times 6/24 \times 5/7 = 67,9 \text{ mg/m}^3$$

- **Pour des travailleurs exposés pendant 8h/j**

$$\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = \text{NOAEC}_{\text{inhalation}} \times 6/8 \times \frac{6,7 \text{ m}^3(8\text{h})}{10 \text{ m}^3(8\text{h})}$$

$$\text{Soit NOAEC}_{\text{corrigé}} = 380 \times 6/8 \times 6,7/10 = 191 \text{ mg/m}^3$$

1.7.3 ÉTAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

1.7.3.1 EXTRAPOLATION INTER ESPECES

D'après les recommandations du TGD, comme la dose critique corrigée a déjà été ajustée sur le principe de l'ajustement allométrique (la concentration inhalée a été préalablement ajustée par rapport aux volumes respiratoires), le facteur d'ajustement allométrique (AS) ne s'applique pas. Cependant, comme il s'agit d'une étude chez le lapin sans indication du volume respiratoire du lapin dans le TGD, l'ajustement allométrique n'a pas été effectué à l'étape b de l'établissement des DNEL et le facteur AS est donc appliqué. En conséquence, les facteurs d'incertitude liés aux variations inter-espèces appliqués par défaut sont les suivants :

- Le facteur AS pour l'espèce testée (le lapin) est égal à 2,4
- Un facteur pour les différences résiduelles égal à 2,5

Soit un facteur d'incertitude lié aux variations inter-espèces de 6 (= 2,4 × 2,5)

1.7.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

En raison du manque de données concernant la variabilité de la population humaine vis à vis de l'EGEE, les facteurs d'incertitude par défaut sont appliqués : 10 pour la population générale et 5 pour les travailleurs.

1.7.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La dose critique retenue a été déterminée à partir d'une étude sub-chronique (durée d'exposition : 13 semaines). La DNEL devant être dérivée pour des expositions chroniques, un facteur par défaut égal à 2 est appliqué à la dose critique corrigée, conformément aux recommandations du TGD.

1.7.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Une NOAEC a été mise en évidence dans l'étude retenue. De ce fait, ce facteur d'incertitude ne s'applique pas.

1.7.3.5 QUALITE DES DONNEES

L'étude de Barbee *et al.* (1984) appartient à la catégorie 2.e selon la cotation de Klimisch, le potentiel reprotoxique de l'EGEE est bien établi : différentes études chez le rat et le lapin ont mis en évidence des effets sur la fertilité en absence de toxicité maternelle. Aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

1.7.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global à appliquer à la dose critique corrigée est égal à 120 ($= 2,4 \times 2,5 \times 10 \times 2$) pour la population générale et à 60 ($= 2,4 \times 2,5 \times 5 \times 2$) pour des travailleurs.

Le calcul de la DNEL pour les effets sur la fertilité de l'EGEE est présenté dans le tableau 6. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 7.

Tableau 32 : Calcul de la DNEL pour l'effet sur la fertilité de l'EGEE

<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>		
Dose critique retenue	NOAEC = 380 mg/m ³	NOAEC = 380 mg/m ³
<i>Etape b : Modification de la dose critique</i>		
	Population générale	Travailleurs
Facteurs d'ajustements	Valeur par défaut	Valeur par défaut
Différences d'absorption animal / homme		
Ajustement de la voie d'exposition		
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)	0,18	0,75
Ajustement des volumes respiratoires		6,7/10
NOAEC corrigé = NOAEC inhalation × facteurs d'ajustement	68 mg/m ³	191 mg/m ³
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>		
	Population générale	Travailleurs
Facteurs d'incertitude	Valeur par défaut	Valeur par défaut
Extrapolation inter espèces	2,4 × 2,5	2,4 × 2,5
Variabilité intra espèces	10	5
Transposition de durée d'exposition	2	2
Relation dose réponse	1	1
Qualité des données	1	1
Facteur d'incertitude global	120	60
Calcul de la DNEL	= 68 / 120 = 0,57 mg/m ³	= 191 / 60 = 3,18 mg/m ³

Tableau 33 : Synthèse de la construction de la DNEL dérivée pour l'effet sur la fertilité de l'EGEE

Effet	Voie et durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude utilisée
Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation Exposition Chronique	Population générale : DNEL= 0,6 mg/m ³ Travailleurs : DNEL= 3 mg/m ³	NOAEC = 380 mg/m ³ (103 ppm) Population générale : NOAEC corrigé = 68 mg/m ³ Travailleurs: NOAEC corrigé = 191 mg/m ³	Population générale : 120 = 2,4 × 2,5 (Inter-espèce) × 10 (intra-espèce) × 2 (étude subchronique) Travailleurs : 60 = 2,4 × 2,5 (Inter-espèces) × 5 (intra-espèce) × 2 (étude subchronique)	Barbee et al., 1984

1.8 DISCUSSION

1.8.1 COMPARAISON NUMERIQUE

La DNEL calculée dans l'étude de cas pour les effets sur le développement de l'EGEE est comparée aux VTR "académiques" existantes. Parmi les 6 bases consultées proposant des VTR (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), l'US EPA (IRIS) et l'OEHHA proposent des VTR pour les effets sur la fertilité. Le groupe d'experts national sur les VTR reprotoxiques (coordonné par l'AFSSET) a également établi une VTR pour les effets sur la fertilité, issu de l'analyse bibliographique effectuée par Doornaert (2006), et qui est présentée dans le tableau 8.

Tableau 34 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature

Organisme (année)	Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
US EPA/ IRIS (1991)	Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation Chronique	$RfC = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mg/m}^3$	NOAEC = 380 mg/m^3 (103 ppm) NOAEC _{HEC} = 68 mg/m^3	300 = 3 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) × 10 (étude subchronique)	Barbee <i>et al.</i> , 1984
OEHHA (2005)	Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation Chronique	$REL = 7 \cdot 10^{-2} \text{ mg/m}^3$	NOAEC = 380 mg/m^3 (103 ppm) NOAEC _{HEC} = 68 mg/m^3	1000 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) × 10 (étude subchronique)	Barbee <i>et al.</i> , 1984
AFSSET (2007)	Reproduction (testicules) et effet systémique (sang)	Inhalation Sub-chronique	VTR = $0,7 \text{ mg/m}^3$	NOAEC = 380 mg/m^3 (103 ppm) NOAEC _{ADJ} = 68 mg/m^3	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	Barbee <i>et al.</i> , 1984

NOAEC_{ADJ} : NOAEC ajusté en fonction du temps

NOAEC_{HEC} : Concentration équivalente humaine (NOAEC_{HEC} = NOAEC_{ADJ} × λ animal / λ homme - λ étant le coefficient de partage sang / air)

Les VTR "académiques" sont élaborées pour la population générale. Ainsi, seules les DNEL élaborées pour la population générale seront comparées à ces VTR. La DNEL est inférieure aux VTR académiques chroniques d'un facteur 3 à 9. Elle est supérieure à la VTR AFSSET (facteur 1,2) mais celle-ci est établie pour une exposition sub-chronique.

1.8.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

Cette comparaison méthodologique repose sur l'analyse des étapes de modification de la dose critique en une DNEL ou une VTR pour les effets reprotoxiques de l'EGEE. Elle devrait ainsi permettre d'identifier les sources potentielles de la divergence numérique constatée ci-dessus.

1.8.2.1.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

La même étude clé (Barbee *et al.*, 1984) a été retenue pour l'élaboration des VTR académiques et de la DNEL pour les effets sur la fertilité masculine de l'EGEE. En conséquence, les données d'entrée qui ont été utilisées sont identiques.

1.8.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

1.8.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ANIMAL-HOMME

Pour l'inhalation, l'absorption de la substance est exprimée par le coefficient de partage sang - air. L'US EPA (1994) et l'OEHHA (2000) préconisent l'application de cet ajustement pour modifier la N(L)OAEAC et calculer une concentration humaine équivalente. L'ajustement est dit dosimétrique. Cet ajustement dosimétrique est réalisé par l'OEHHA et l'US EPA pour tenir compte des variations observées entre différentes espèces pour la dose réellement inhalée car les caractéristiques d'entrée d'un produit dans le système respiratoire sont fonction de paramètres physiques, anatomiques et physiologiques qui varient considérablement d'une espèce à l'autre (Bonvallot et Dor, 2002). Selon le TGD, cet ajustement de la dose critique repose sur les différences d'absorption, il est indépendant de l'ajustement allométrique qui lui dépend des volumes respiratoires. Les ajustements sont numériquement équivalents mais les différences d'appréciation interviennent par la suite pour l'application du facteur d'incertitude inter-espèces.

L'AFSSET n'utilise pas les coefficients de partage sang-air. Ceux-ci sont intégrés au concept d'ajustement allométrique, lequel n'a pas été retenu dans sa méthodologie car le groupe d'experts a estimé que les connaissances sont insuffisantes pour une application transparente, juste et satisfaisante de cet ajustement. L'impact numérique est nul dans le cas de l'EGEE car les coefficients de partage entre l'air et le sang de l'EGEE chez les deux espèces ne sont pas connus et que l'ajustement n'a en conséquence pas pu être effectué pour la DNEL ou les VTR américaines. Dans le cas contraire, il y aurait pu avoir un impact numérique.

1.8.2.2.2 AJUSTEMENT SUR LES CONDITIONS D'EXPOSITION

La méthodologie européenne prévoit également un ajustement des données toxicologiques en fonction du temps par l'application de la loi de Haber simplifiée (Haber, 1924). Pour l'établissement de la DNEL effet sur la fertilité/ exposition chronique de l'EGEE, la loi de Haber simplifiée (coefficient $n=1$) a été utilisée. Celle-ci repose sur l'hypothèse d'une relation linéaire dose-effet. Cet ajustement a également été réalisé par l'OEHHA, l'US EPA et l'AFSSET. Pour les VTR, le NOAEL modifié en fonction de cet ajustement est appelé NOAEL_{ADJ}. A noter que le groupe de travail de l'AFSSET (2007) a recommandé qu'une réflexion soit menée pour mieux comprendre les possibilités d'application de tels ajustements ainsi que leur justification scientifique mais il a toutefois été appliqué dans le cas de l'EGEE, les effets sur la fertilité ayant été

identifiés comme s'accroissant avec le temps d'exposition d'après l'étude de Foster (1994).

1.8.2.2.3 AJUSTEMENT SUR LES VOLUMES RESPIRATOIRES

La méthodologie DNEL recommande l'ajustement allométrique sur la base des volumes respiratoires ce qui n'est pas le cas de l'approche VTR. Cependant, en l'absence de valeur pour le volume respiratoire chez le lapin, il n'a pas été effectué ici.

1.8.2.2.4 FACTEURS D'INCERTITUDE

1.8.2.2.4.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

Pour les VTR académiques recensées dans le cadre des effets reprotoxiques de l'EGEE, un facteur d'incertitude inter-espèces (UF_A) égal à 10 a été appliqué par l'OEHHA et le groupe d'expert de l'AFSSET. La valeur de 10 repose sur des considérations de toxicocinétique et de toxicodynamie. Le facteur inter-espèces de l'US EPA repose sur les mêmes considérations mais dans le cas de l'EGEE, la valeur de 3 a été retenue. La valeur du facteur UF_A a été réduite à 3 en raison de la diminution de l'incertitude sur la composante toxicocinétique du fait de l'ajustement allométrique réalisé (ajustement dit dosimétrique par l'US EPA). L'US EPA considère que l'ajustement allométrique peut être pris en considération bien que les coefficients de partage sang-air utilisés dans le calcul du $NOAEC_{HEC}$ ne soient pas disponibles et que le rapport de ces coefficients ait été pris par défaut égal à 1. L'utilisation de cette valeur par défaut ne devrait pourtant pas permettre de réduire le facteur d'incertitude inter-espèces puisque aucune donnée pertinente ne vient conforter l'hypothèse de comportement similaire (Bonvallet et Dor, 2002). L'OEHHA suit normalement cette hypothèse mais dans le cas de l'EGEE, les données chez l'homme montrent une différence avec l'animal aussi il a été jugé inapproprié de réduire le facteur inter-espèces.

Le facteur d'incertitude inter-espèces pour la DNEL est de 6. Dans l'établissement des DNEL par inhalation, l'incertitude liée à l'extrapolation inter-espèces est prise en considération par l'application du facteur de 2,5 pour les incertitudes liées à la toxicodynamie (et les différences de cinétique non prises en compte par l'ajustement allométrique). Par ailleurs, dans le cas de l'EGEE, le facteur d'ajustement allométrique ($AS=2,4$ chez le lapin) a été appliqué car la dose critique n'a pas été ajustée sur les volumes respiratoires à l'étape b, le TGD ne donnant pas l'information. L'ajustement allométrique (par l'intermédiaire du facteur AS ou de l'ajustement sur les volumes respiratoires) est dépendant de l'espèce étudiée. Ici, l'étude source étant menée chez le lapin, le facteur AS est de 2,4 et le facteur inter-espèces est de 6. Ce dernier aurait été équivalent à celui de la VTR (10) dans le cas d'une étude menée chez le rat ($AS=4$).

Dans le cas des effets sur le développement de l'EGEE (Cf. § 1.5), il a déjà été souligné que les méthodologies proposées pour les VTR académiques ou pour les DNEL sont scientifiquement justifiées mais différentes : le facteur d'incertitude lié à la variabilité inter-espèces est subdivisé en deux composantes toxicocinétique et toxicodynamique mais la subdivision et la composante toxicocinétique reposent sur des hypothèses distinctes. A la lumière de cet exemple, il est important de préciser que :

- Pour les VTR " académiques ", la composante toxicocinétique du facteur d'extrapolation inter-espèces peut être modulée lorsque les différences d'absorption

ont été prises en compte au préalable par un ajustement dosimétrique¹² (hypothèse non suivie par l'AFSSET) mais elle est indépendante de l'espèce ;

- Pour les DNELs, la composante toxicocinétique est essentiellement prise en compte par l'ajustement allométrique qui est dépendant de l'espèce étudiée ; l'ajustement sur les différences d'absorption n'influence pas le facteur d'incertitude inter-espèces.

Cette différence sur l'ajustement allométrique et l'ajustement sur les différences d'absorption (coefficients de partage air-sang) sont des éléments clé à l'origine de la différence numérique et méthodologique entre VTR et DNEL. Dans le cas de l'EGEE et des effets sur la fertilité, la différence numérique constatée est liée à l'utilisation d'une étude chez le lapin et à l'application du facteur AS dépendant de l'espèce mais aussi, en ce qui concerne l'US EPA, à l'utilisation des coefficients d'absorption (même lorsqu'ils ne sont pas connus) et l'application du facteur inter-espèces réduit qui en découle.

1.8.2.2.5 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur classiquement retenu pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu à la fois pour l'élaboration des VTR "académiques " et des DNEL.

1.8.2.2.6 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

Pour l'établissement de la DNEL effet sur la fertilité de l'EGEE, un facteur d'incertitude pour la transposition de durée de l'étude de sub-chronique à chronique de 2 a été appliqué. L'US EPA et l'OEHHA ont retenu une valeur de 10 pour ce facteur.

L'US EPA a retenu la valeur de 10 par défaut. L'OEHHA a déterminé la valeur de ce facteur en fonction des conditions expérimentales d'exposition et de la durée de vie l'espèce testée. Cette approche (OEHHA, 2000) permet d'utiliser, quand les conditions le permettent, un facteur ajusté (3 en général) mais cela n'est pas le cas pour l'EGEE et l'étude de Barbee *et al.* (1984). La VTR élaborée par l'AFSSET (2007) est applicable à une exposition sub-chronique, aucun facteur de transposition de durée d'exposition n'a été appliqué. Dans le cas des effets sur la reproduction, l'AFSSET considère que l'application de ce facteur peut être envisagée au cas par cas et sa valeur doit être appréciée au regard des données toxicologiques sur la molécule étudiée et sur les effets pris en compte (propriétés connues de la substance, potentiel d'accumulation, potentiel tératogène...). Apparemment, selon l'approche préconisée par l'AFSSET, l'utilisation qui est faite de la VTR (durée d'exposition) n'est en général pas prise en compte pour l'élaboration de leur VTR.

Pour ce facteur, la méthodologie proposée par le TGD est innovante et les valeurs numériques (2 ou 6) sont différentes de celles utilisées pour les VTR (3 ou 10). Empiriquement, l'utilisation des facteurs du TGD n'est pas justifiée et repose *a priori* sur l'expérience. Celle ci montre que l'incertitude liée à l'extrapolation à partir d'une étude sub-chronique est moins importante. Par ailleurs il apparaît pertinent de considérer que l'incertitude est plus importante lorsque l'étude source concerne une exposition plutôt aiguë que sub-chronique.

¹² L'ajustement dosimétrique pour la voie de l'inhalation tient compte des coefficients de partage air-sang et donc de l'absorption des substances. Pour la voie orale, l'ajustement dosimétrique repose seulement sur les poids corporels (et non sur les facteurs d'absorption) mais en pratique il n'a pas utilisé (Bonvallot et Dor, 2002). Ici, l'ajustement dosimétrique concerne donc implicitement la voie de l'inhalation.

1.9 CONCLUSION

Comme pour les effets sur le développement de l'EGEE, la comparaison méthodologique a mis l'accent sur le facteur d'extrapolation inter-espèces et en particulier l'ajustement allométrique, ainsi que sur le facteur d'incertitude lié à l'incertitude temporelle. Pour ce dernier, le TGD propose, pour une extrapolation à une utilisation chronique, des valeurs ajustées en fonction de la durée d'exposition de l'étude source (ici la valeur de 2 a été appliquée car l'étude de Barbee *et al.* (1984) est sub-chronique) alors que pour les VTR, la valeur du facteur est de 10 (parfois 3), ce qui fait un écart d'un facteur 5 (1,5) avec la méthodologie DNEL dans le cas d'étude sub-chronique. La proposition du TGD est innovante, elle n'est pas rigoureusement justifiée mais ne paraît pas infondée, sur la base de considérations empiriques. **Il est important de noter que les valeurs recommandées par le TGD (2 ou 6) pour le facteur d'incertitude liée à la transposition de l'exposition sont innovantes et différentes de celles utilisées pour les VTR (3 ou 10), un impact numérique systématique sur la divergence DNEL/VTR est donc à envisager.**

1.10 REFERENCES

1. AFSSET, 2007. Avis de l'Afsset relatif à la proposition d'une méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances toxiques sur la reproduction et le développement. Saisine Afsset N°2003/AS03 et son document de référence, rapport du groupe d'experts "VTR reprotoxiques".
2. Barbee S.J., Terrill J.B., DeSousa D.J. et Conaway C.C. 1984. - Subchronic inhalation toxicology of ethylene glycol monoethyl ether in the rat and the rabbit. *Environmental Health Perspectives*, 57, 157-163.
3. Bonvallot N., Dor F. 2002. Valeurs Toxicologiques de Référence : méthodes d'élaboration, Institut de Veille Sanitaire, Département Santé Environnement, Unité Evaluation des Risques Sanitaires, Saint-Maurice, 2002, 84p. (<http://www.invs.sante.fr/publications/default.htm>)
4. Bunce NJ, Remillard RBJ. (2003) - Haber's rule: the search for quantitative relationships in toxicology. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9(4):973-985.
5. Doe JE, 1984. Ethylene glycol monoethyl ether and ethylene glycol monoethyl ether acetate teratology studies. *Environmental Health Perspectives*, 57, 33-41.
6. Doornaert. B. 2006. Construction de VTR reprotoxique selon de document de référence de l'Afsset - Ether éthylique de l'éthylène glycol (EGEE). INERIS-DRC-06-70355/ETSC/Bdo-06DR135 (www.ineris.fr).
7. ECETOC, 2003. Derivation of assessment factors for human health risk assessment. Technical Report No. 86 (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals)- Brussels.
8. ECHA, 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment ; Chapter R.8 : Characterisation of dose [concentration]-response for human health. http://echa.europa.eu/REACH_en.asp
9. Falk-Filipsson A., Hanberg A., Victorin K., Warholm M., Wallén M. 2007. Assessment factors—Applications in health risk assessment of chemicals. *Environmental Research*, 104 (1), 108-127.
10. Foster P.M.D., Creasy D.M., Foster J.R. et Gray T.J.B. 1984. Testicular toxicity produced by ethylene glycol monoethyl and monoethyl ethers in the rat. *Environmental Health Perspectives*, 57, 207-217.
11. INSERM, 1999. Ethers de Glycol : Quels risques pour la santé ? Collection expertise collective Inserm, Edition Inserm, Paris.
12. INSERM, 2006. Ethers de Glycol : Nouvelles données toxicologiques. Collection expertise collective Inserm, Edition Inserm, Paris.
13. IPCS, 1994. Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits. Environmental Health Criteria 170. International Programme on Chemical Safety, WHO/UNEP/ILO, World Health Organization, Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc170.htm>
14. Kalberlah F. and Schneider K. 1998. Quantification of extrapolation factors. Final report of the research project No. 116 06 113 of the Federal Environmental Agency. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Fb 797, Dortmund/Berlin.
15. Kalberlah F., Först, Schneider, 2002. Time extrapolation and interspecies extrapolation for locally acting substances in case of limited toxicological data. *Ann Occup Hyg* 46(2), 175-185.
16. KEMI, 2003. The Swedish National Chemicals Inspectorate. Human Health Risk Assessment: Proposals for the Use of Assessment (Uncertainty) Factors. Application to risk assessment for plant protection products, industrial chemicals and biocidal products within the European Union. Report n°1/03. January, 2003. Stockholm.
17. Klimisch HJ, Andreae M, Tillmann U. 1997. A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*.;25(1):1-5.

18. NAS, 1983. National Academy of Sciences, Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health, Commission on Life Sciences, National Research Council. Washington, DC.
19. Ratcliffe J., Schrader, S.M., Clapp D.E., Halperin W.E., Turner T.W. et Hornung R.W. 1989. Semen quality in workers exposed to 2-ethoxyethanol. *British Journal of Industrial Medicine*, 46, 399-406.
20. Renwick AG. 1999. Subdivision of uncertainty factors to allow for toxicokinetics and toxicodynamics, *Human and Ecological Risk Assessment*, 5 (5), 1035-1050.
21. US EPA, 1994. United States Environmental Protection Agency, Methods for Derivation of Reference Inhalation concentrations and application of inhalation dosimetry, Washington DC,, 389p. <http://www.epa.gov/nscep/>
22. Vermeire TG, Stevenson H, Pieters MN, Rennen M, Slob W and Hakkert BC. 1999. Assessment factors for human health risk assessment: a discussion paper. *Crit. Reviews Toxicol.* 29 (5), 439-490.
23. Vermeire T, Pieters M, Rennen M and Bos P, 2001. Probabilistic assessment factors for human health risk assessment - a practical guide. RIVM report 601516 005/TNO report V3489. National Institute of Public Health and the Environment (RIVM) (in cooperation with TNO Nutrition and Food Research), Bilthoven, The Netherlands.
24. Welch L.S., Schrader S.M., Turner T.W. et Cullen M.R. 1988. Effects of exposure to ethylene glycol ethers on skipyard painters : II. Male reproduction. *American Journal of Industrial Medicine*, 14, 509-526.
25. WHO/IPCS, 2005. Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration-response assessment. IPCS Harmonization Project Document No. 2

2. ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DU CHLOROETHANE (75-00-3)

Les différentes étapes de la construction de DNEL pour les effets reprotoxiques du chloroéthane selon la méthodologie décrite dans le TGD (mai 2008) sont présentés ci-dessous. La synthèse sur la toxicité du chloroéthane s'appuie sur les données rapportées dans la monographie de l'ATSDSR (1998), de l'OMS (2003 a et b) et dans le IUCLID européen (2000) ainsi que sur les recherches bibliographiques conduites en juin 2008 dans les bases de données toxnet et pubmed.

2.1 TOXICITE DU CHLOROETHANE

Comme le chloroéthane est un gaz, une exposition par voie orale de l'homme à ce composé est improbable. Les études chez l'animal pour les effets du chloroéthane sont donc principalement par inhalation.

Le système nerveux central est une cible de toxicité du chloroéthane après exposition brève. Chez l'homme, de nombreux rapports sur les effets neurologiques du chloroéthane sont disponibles. Ils font référence à des expositions de quelques minutes à des concentrations de l'ordre de 13 000 à 20 000 ppm (incoordination, vertige, diminution du temps de réaction rapportés) ou à son utilisation comme anesthésique (soit une exposition aux environs de 40 000 ppm) et très peu d'informations sont disponibles sur les effets à faibles concentrations (ATSDR, 1998). Chez l'animal, sont rapportés, après exposition à des concentrations élevées (20 000 à plus de 50 000 ppm) pendant de courtes périodes (quelques minutes), des troubles de l'équilibre suivi d'une perte de conscience. Aucune lésion histologique du cerveau n'a été rapportée chez le rat après une exposition de 4 h à 436 ppm (Gohlke et Schmidt 1972 ; Schmidt *et al.* 1972 ; cités dans ATSDR, 1998), ni chez la souris, ni chez le rat après exposition de 2, 13 semaines (19 000 ppm) et 2 ans (15 000ppm) (NTP, 1989). Une hyperactivité a été rapportée à 9980 ppm chez les souris femelles (exposées 2 ans) et chez le chien (exposé 2 semaines) (NTP, 1989 ; Landry *et al.*, 1982) mais elle n'a pas été corrélée avec des effets neurocomportementaux (Landry *et al.*, 1982).

S'agissant des effets systémiques, aucun effet n'a été mis en évidence sur les paramètres biochimiques et hématologiques après 14 jours d'exposition à 15 000 ppm ni chez le chien ou le rat, ni chez la souris après 11 jours d'exposition, dans la seule étude ayant recherché ces effets (Landry *et al.*, 1982, 1987, 1989, cités dans ATSDR, 1998). Les effets hépatiques ont été largement étudiés chez l'animal, après exposition unique ou répétée. Dans les études de toxicité répétée (Landry *et al.*, 1982, 1987, 1989 ; NTP, 1989 ; Fedtke *et al.*, 1994a et b ; Bucher *et al.*, 1995 ; Gohlke et Schmidt 1972 ; Schmidt *et al.*, 1972 ; citées dans ATSDR), seules des modifications du poids du foie, une vacuolisation des hépatocytes ou une diminution du taux de glutathion ont été rapportées chez le chien, la souris et le rat, dans une fourchette de 4000 à 19 000 ppm. L'augmentation du poids du foie observée chez le rat après exposition pendant 2 semaines à 3980 ppm dans l'étude de Landry *et al.* (1982) n'a pas été considérée comme indicateur d'une toxicité par les auteurs. L'ATSDR qualifie les effets hépatiques rapportés comme légers et pouvant être considérés comme adaptatifs à l'exposition au chloroéthane (ATSDR, 1998). Ainsi, les études de toxicité répétée de Landry *et al.* et du NTP n'ont pas clairement identifié d'organe cible de la toxicité du chloroéthane (ATSDR, 1998).

En outre, le chloroéthane est classé par l'Union Européenne en catégorie 3 des substances cancérogènes (substance préoccupante pour l'homme en raison d'effets cancérogènes possibles) (1996). L'US EPA n'a pas évalué le chloroéthane. L'IARC a classé

le chloroéthane dans le groupe 3 (ne peut être classé pour sa cancérogénicité) (1999). Ce classement a été effectué sur la base de preuves limitées chez l'animal et d'une absence de données chez l'homme : des cancers utérins ont été rapportés chez des souris exposées 2 ans à 15 000 ppm (NTP, 1989).

Par ailleurs, plusieurs études évaluant les effets reprotoxiques du chloroéthane chez l'animal ont mis en évidence des effets sur l'utérus à 15 000 ppm (poids de l'organe, concentration en glutathion) (ATSDR, 1998). Une étude fait état d'effets sur le développement, au cours de laquelle des effets fœtotoxiques ont été mis en évidence à 5 000 ppm chez la souris (Scortichini *et al.*, 1996 ; ATSDR, 1998). Les effets reprotoxiques paraissent donc pertinents pour l'élaboration d'une relation dose-réponse liée à l'inhalation de chloroéthane.

2.2 EFFETS CRITIQUES (REPRODUCTION ET DEVELOPPEMENT)

Aucune étude n'est disponible en ce qui concerne les effets sur la reproduction ou les effets sur le développement chez l'homme mais plusieurs études rapportent des effets reprotoxiques du chloroéthane chez l'animal. Une diminution de 35 % des poids utérins a été observée chez des souris exposées à 15 000 ppm de chloroéthane 6h/j pendant 5 j (Fedtke *et al.*, 1994a, cité dans ATSDR, 1998). Des baisses significatives de la concentration utérine en glutathion ont aussi été observées chez le rat et la souris, la diminution en glutathion ayant été supérieure à celle observée dans les autres organes (foie, poumons et reins) (Fedtke *et al.*, 1994b cité dans ATSDR, 1998). Dans l'étude sub-chronique du NTP (chez la souris, 90 j à 15 000 ppm) les examens menés à l'autopsie ne sont pas précisés (NTP, 1989). De la même manière, d'après les résumés des études de Landry *et al.*, le détail des examens histologiques n'est pas fourni sans mise en évidence d'effet (ATSDR, 1998). Il n'y a donc pas de données sur d'éventuelles lésions des organes reproducteurs (NTP, 1989 ; ATSDR, 1998).

Dans une étude ayant pour objet la mise en évidence de modifications hormonales pour expliquer le potentiel cancérogène sur l'utérus du chloroéthane (Bucher *et al.*, 1995), la mesure des taux sériques d'estradiol et de progestérone n'a pas révélé de modifications statistiquement significatives imputables au chloroéthane chez les souris exposées à 15 000 ppm 6h/j pendant 21 j. En outre, une légère augmentation de la durée moyenne du cycle œstral a été observée.

S'agissant des effets sur le développement, une étude conduite pendant les jours 6 à 15 de la gestation rapporte des signes de toxicité fœtale chez les souris exposées à la plus forte dose testée (4946 ppm) (Scortichini *et al.*, 1986 cité dans ATSDR, 1998 ; Hanley, 1987). Une augmentation statistiquement significative de petits foyers d'absence d'ossification des os du crâne a été observée dans la descendance des souris exposées. Aucun effet sur la mortalité pré ou néonatale n'a été rapporté.

2.3 MECANISME D'ACTION ET COHERENCE DES DONNEES ANIMALES ET HUMAINES

Le mécanisme exact d'action pour la toxicité du chloroéthane n'est pas défini. Il est généralement admis que le chloroéthane a pour cible le système nerveux central sur la base de ses caractéristiques physico-chimiques et de sa similitude à d'autres composés organiques halogénés volatils aux propriétés anesthésiques (ATSDR, 1998). La capacité à produire ces changements structurels sur les protéines ou lipoprotéines des membranes cellulaires a été proposée par Balasubramanian et Wetlaufer (1966) comme mécanisme pour l'activité anesthésique (ATSDR, 1998).

Le passage de la barrière placentaire par le chloroéthane n'est pas démontré mais sur la base de ses propriétés physico-chimiques, ce passage est probable (ATSDR, 1998).

Cohérence des données animales et humaines

L'effet sur le développement mis en évidence chez la souris à 5 000 ppm est le plus faible niveau d'exposition rapporté ayant entraîné un effet néfaste chez des animaux exposés.

Aucune étude multi-génération n'est disponible, ni une autre étude de développement sur une deuxième espèce pour permettre de confirmer les potentiels effets du chloroéthane sur le développement. Les analyses histopathologiques des organes reproducteurs des études de toxicité répétée n'ont pas mis en évidence d'effet. La pertinence de l'extrapolation à l'homme des effets sur l'utérus n'est pas connue, car les données chez l'homme ne sont pas disponibles (ATSDR, 1998).

Aucune donnée ne permet de préciser si les mécanismes d'action sont différents entre l'animal et l'homme.

Néanmoins, sur la base de ces informations, les données expérimentales sur le développement sont utilisées et transposées à l'homme.

2.4 CONSTRUCTION DES DNEL POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DU CHLOROETHANE

2.4.1 ETAPE A: SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DU CHLOROETHANE

Les recherches bibliographiques n'ont pas mis en évidence d'étude plus récente que celle ayant permis l'élaboration des VTR. L'élaboration de la DNEL s'est donc appuyée sur la même étude clé que celle retenue par les instances ayant élaboré les VTR.

Cette étude expérimentale par inhalation de chloroéthane est l'étude de Scortichini *et al.* (1986). L'étude n'étant pas publiée, le résumé de Hanley *et al.* (1987) ainsi que ceux fournis dans les bases de données (US EPA, OEHHA, ATSDR, IUCLID) ont été utilisés comme base de donnée pour l'élaboration de la DNEL.

Bien qu'aucune cotation de Klimish n'ait pu être effectuée, il est cohérent de retenir l'étude sur laquelle se sont appuyées les trois instances ayant élaboré une VTR pour les effets liés à une exposition par inhalation du chloroéthane. D'après les résumés (US EPA, OEHHA, ATSDR, IUCLID, Hanley), suffisamment d'informations sont disponibles pour permettre l'élaboration d'une DNEL.

Etude de Scortichini *et al.*, 1986.

- ✓ **Espèce étudiée** : Souris Charles River.
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : Souris femelles gravides - 30 par lot.
- ✓ **Voie d'exposition** : Inhalation - Vapeurs.
- ✓ **Substance - Forme chimique** : Chloroéthane, pureté 99,7%.
- ✓ **Temps et fréquence d'exposition** : Jours 6 à 15 de la gestation (10 jours), 6h/j.
- ✓ **Doses d'exposition** : 0, 491, 1504 ou 4946 ppm.

- ✓ **Protocole expérimental** : A J6 et J9, J12, J15 et J18 de gestation, les poids corporels ont été enregistrés et les quantités de nourriture et de prises d'eau ont été mesurées. Les animaux ont été sacrifiés à J18. A l'achèvement de l'étude, les données suivantes ont été rapportées : poids du foie des mères, nombre et position de fœtus *in utero*, nombre de fœtus vivants et morts ; nombre et position des sites de résorption, poids et sexe de chaque fœtus ; examen macroscopique externe. Un examen microscopique des portées a été réalisé : la moitié pour examen des modifications morphologiques, l'autre moitié pour les modifications du squelette.
- ✓ **Résultats / Effets observés** : Aucune toxicité maternelle n'a été mise en évidence. Aucun effet n'est rapporté sur le poids des fœtus, les paramètres de reproduction ou sur d'éventuelles malformations. Une petite augmentation statistiquement significative ($p = 0,05$) de l'incidence du foramen des os du crâne a été observée à la dose la plus élevée (4946 ppm) :
 - Pourcentages des portées affectées : 5%, 4%, 4%, 23% à 0, 491, 1504, et 4946 ppm, respectivement ;
 - Pourcentages des fœtus touchés : 1%, 1%, 1%, 4% à 0, 491, 1504, et 4946 ppm, respectivement
- ✓ **Relation dose-réponse, possibilité de déterminer un NOAEC ou un LOAEC** : le NOAEC a été établi à 1504 ppm (4000 mg/m³) pour des effets sur le développement (retard ossification) suite à une exposition aiguë (10 j) par inhalation de chloroéthane.
- ✓ Le tableau 9 résume l'étude de Scortichini *et al.* ayant permis de proposer une NOAEC pour les effets reprotoxiques du Chloroéthane.

Tableau 35 : Dose critique définie pour les effets reprotoxiques du Chloroéthane et retenue pour l'élaboration des VTR/DNEL reprotoxiques

Etude retenue	NOAEC établie	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Scortichini <i>et al.</i> , 1986	NOAEC : 1504 ppm (4000 mg/m ³)	Inhalation 6h/j pendant 10 j (6 ^{ème} au 15 ^{ème} jour de gestation)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité : Retard d'ossification, observé par l'augmentation statistiquement significative de l'incidence des foramens des os du crâne. Autres effets : Augmentation de l'incidence des côtes surnuméraires (cervicales). Effet non statistiquement significatif.	Souris femelles Charles River

2.4.2 ÉTAPE B: MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACh, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

2.4.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Pour l'inhalation, l'absorption de la substance est exprimée par le coefficient de partage sang - air. Gargas *et al.* ont déterminé en 1989 des coefficients de partage sang-air chez le rat (valeur : 4,08) et chez l'homme (valeur : 2,69) et en 2008 chez la souris (5,1) (Gargas *et al.*, 2008). Ces valeurs sont utilisées pour l'établissement de la DNEL.

Toutefois, ce coefficient n'étant pas disponible aux experts au moment de la construction des VTR et afin de pouvoir comparer la valeur DNEL aux VTR classiques sur la base des mêmes informations, une DNEL est également élaborée en considérant le rapport des coefficients animal/homme par défaut égal à 1. Deux DNEL et deux doses critiques corrigées sont ainsi calculées :

- **Cas 1** : correction des différences d'absorption entre animal et homme sur la base du rapport des coefficients de partage sang-air ;
- **Cas 2** : les coefficients de partage sang-air, animal/homme ne sont pas utilisés

Cas 1 : La NOAEC de 4000 mg/m³ est corrigée sur la base du rapport des coefficients (5,1 chez la souris /2,69 chez l'homme) soit d'un facteur 1,9.

Cas 2 : La dose critique n'est pas corrigée à cette étape.

2.4.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

2.4.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Lorsque les conditions expérimentales chez l'animal diffèrent des conditions envisagées chez la population cible, le TGD indique qu'il convient d'ajuster les doses d'exposition lorsque l'effet toxique est induit par la dose totale (cumulée) ou s'il dépend à la fois de la dose cumulée et de la concentration d'exposition ; en outre, il est inadapté lorsque l'effet toxique est dépendant prioritairement de la concentration d'exposition. Les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (fenêtre de sensibilité) aussi l'ajustement sur les conditions d'exposition n'est pas approprié pour l'établissement de DNELs pour les effets sur le développement. Aucun ajustement n'a été effectué.

2.4.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

D'après le TGD, les taux respiratoires dépendent de la demande calorique, et donc un ajustement sur les volumes respiratoires correspond à un ajustement sur le taux métabolique, en d'autres termes à l'ajustement allométrique. Toutefois, le TGD ne

donne pas le volume respiratoire de la souris. Ainsi, la dose critique n'est pas ajustée sur les volumes respiratoires. L'ajustement allométrique sera pris en compte lors de l'application du facteur d'incertitude inter-espèces (facteur AS).

Les différences de volumes respiratoires liées à l'activité physique des travailleurs ne sont pas prises en compte par l'ajustement allométrique. Ainsi, un ajustement de la dose critique est nécessaire pour les travailleurs prenant en compte le volume respiratoire en activité (10 m³) et celui au repos (6,7 m³) : un facteur égal à 0,67 (= 6,7m³/10m³) est appliqué à la dose critique.

Calcul de la dose critique corrigée :

▪ Cas 1 :

- Pour la population générale exposée par inhalation pendant 24h/j

$$\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = \text{NOAEC}_{\text{inhalation}} \times 1,9$$

$$\text{Soit NOAEC}_{\text{corrigé}} = 7584 \text{ mg/m}^3$$

- Pour des travailleurs exposés pendant 8h/j

$$6,7 \text{ m}^3(8\text{h})$$

$$\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = \text{NOAEC}_{\text{inhalation}} \times 1,9 \times \frac{6,7 \text{ m}^3(8\text{h})}{10 \text{ m}^3(8\text{h})}$$

$$\text{Soit NOAEC}_{\text{corrigé}} = 7600 \times 1,9 \times 6,7/10 = 5081 \text{ mg/m}^3$$

▪ Cas 2 :

- Pour la population générale exposée, la NOAEC n'est pas corrigée (NOAEC=4000 mg/m³)
- Pour des travailleurs exposés pendant 8h/j

$$6,7 \text{ m}^3(8\text{h})$$

$$\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = \text{NOAEC}_{\text{inhalation}} \times \frac{6,7 \text{ m}^3(8\text{h})}{10 \text{ m}^3(8\text{h})}$$

$$\text{Soit NOAEC}_{\text{corrigé}} = 4000 \times 6,7/10 = 2680 \text{ mg/m}^3$$

2.4.3 ÉTAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

2.4.3.1 EXTRAPOLATION INTER ESPECES

D'après les recommandations du TGD, comme la dose critique corrigée a déjà été ajustée sur le principe de l'ajustement allométrique (la concentration inhalée a été préalablement ajustée par rapport aux volumes respiratoires), le facteur d'ajustement allométrique (AS) ne s'applique pas. Cependant, comme il s'agit d'une étude chez la souris et que le volume respiratoire de la souris n'est pas indiqué dans le TGD, l'ajustement allométrique n'a pas été effectué à l'étape b de l'établissement des DNEL et le facteur AS est donc appliqué.

En conséquence, les facteurs d'incertitude liés aux variations inter-espèces appliqués par défaut sont les suivants :

- ◆ Facteur AS pour l'espèce testée (la souris) est égal à 7
- ◆ Un facteur pour les différences résiduelles égal à 2,5

Soit un facteur d'incertitude lié aux variations inter-espèces d'une valeur de 17,5 (= $7 \times 2,5$)

2.4.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

Le facteur classiquement retenu pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu pour la population générale et de 5 pour les travailleurs.

2.4.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La durée d'exposition dans l'étude de Scortichini *et al.* (1986) est de 10 jours pendant la gestation mais les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (à un moment critique). La DNEL dérivée de la NOAEC issue de cette étude sera donc de type aigu et applicable pour les femmes enceintes ou en âge de procréer. De ce fait, il n'est pas nécessaire d'appliquer un facteur d'incertitude pour l'inadéquation de la durée d'exposition de l'étude expérimentale utilisée (AF = 1).

2.4.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Une NOAEC a été mise en évidence dans l'étude retenue. De ce fait, ce facteur d'incertitude ne s'applique pas.

2.4.3.5 QUALITE DES DONNEES

L'étude de Scortichini *et al.* (1986) retenue, bien que n'établissant pas de relation dose-réponse ferme (effets observés à la plus forte dose), est bien menée et jugée de qualité acceptable.

Bien que les organes cibles de toxicité du chloroéthane pourraient être mieux définis, le profil toxicologique du chloroéthane (cf § 2.1) est jugé suffisant pour apprécier le niveau de concentration nécessaire à l'apparition d'effets néfastes sur la santé (chez l'animal) et comme l'étude retenue est bien menée, aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

2.4.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global à appliquer à la dose critique corrigée est égal à :

- pour la population générale : $7 \times 2,5 \times 10 = 175$
- pour des travailleurs : $7 \times 2,5 \times 5 = 87,5$

Le calcul des deux DNEL pour les effets sur le développement du chloroéthane est présenté dans les 2 tableaux ci-après (10 et 11), la synthèse des résultats dans le tableau d'après.

Tableau 36 : Calcul de la DNEL (cas 1) pour l'effet sur le développement du Chloroéthane à partir de l'étude de Scortichini et al., 1986

	Population générale	Travailleurs
<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>		
Dose critique retenue	NOAEC = 4000 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³
<i>Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustment</i>		
Facteurs d'ajustement		
Différences d'absorption animal / homme	1,9	1,9
Ajustement de la voie d'exposition		
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)		
Ajustement des volumes respiratoires		6,7/10
NOAEC corrigé = NOAEC inhalation × facteurs d'ajustement	7584 mg/m ³	5081 mg/m ³
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>		
Facteurs d'incertitude		
Extrapolation inter espèces	7 x 2,5	7 x 2,5
Variabilité intra espèces	10	5
Transposition de durée d'exposition	1	1
Relation dose réponse	1	1
Qualité des données	1	1
Facteur d'incertitude global	175	87,5
Calcul de la DNEL	= 7584 / 175 = 43 mg/m³	= 5081 / 87,5 = 58 mg/m³

Tableau 37 : Calcul de la DNEL (cas 2) pour l'effet sur le développement du Chloroéthane à partir de l'étude de Scortichini et al., 1986

	Population générale	Travailleurs
<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>		
Dose critique retenue	NOAEC = 4000 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³
<i>Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustement</i>		
Facteurs d'ajustement		
Différences d'absorption animal / homme		
Ajustement de la voie d'exposition		
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)		
Ajustement des volumes respiratoires		6,7/10
NOAEC corrigé = NOAEC inhalation × facteurs d'ajustement	4000 mg/m ³	2680 mg/m ³
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>		
Facteurs d'incertitude		
Extrapolation inter espèces	7 × 2,5	7 × 2,5
Variabilité intra espèces	10	5
Transposition de durée d'exposition	1	1
Relation dose réponse	1	1
Qualité des données	1	1
Facteur d'incertitude global	175	87,5
Calcul de la DNEL	= 4000 / 175 = 23 mg/m³	= 2680 / 87,5 = 31 mg/m³

**Tableau 38 : Synthèse de la construction des DNEL dérivées
pour l'effet sur le développement du chloroéthane**

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Inhalation Exposition Aiguë Cas 1	Population générale : DNEL= 43 mg/m ³ Travailleurs : DNEL= 58 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm) Population générale : NOAEC corrigée = 7584 mg/m ³ Travailleurs : NOAEC corrigée = 5081 mg/m ³	Population générale : 175 =17,5(Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) Travailleurs : 87,5 =17,5(Inter-espèce) × 5 (Intra-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Inhalation Exposition Aiguë Cas 2	Population générale : DNEL= 23 mg/m ³ Travailleurs : DNEL= 31 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm) Population générale : Pas de correction Travailleurs : NOAEC corrigée = 2680 mg/m ³	Population générale : 175 = 7 × 2,5 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) Travailleurs : 87,5 =17,5(Inter-espèce) × 5 (Intra-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986

2.5 DISCUSSION

2.5.1 COMPARAISON NUMERIQUE

Les DNEL calculées dans l'étude de cas pour les effets reprotoxiques du chloroéthane sont comparées aux VTR "académiques" existantes. Parmi les 6 bases consultées proposant des VTR (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), l'US EPA (IRIS), l'ATSDR et l'OEHHA ont proposé une VTR pour les effets sur le développement du chloroéthane. Ces différentes VTR issues de la littérature sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 39 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature

Organisme (année)	Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
US EPA/ IRIS (1991)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité (retard ossification)	Inhalation, Exposition chronique	RfC = 10 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm) NOAEC _{ADJ} = 4000 mg/m ³ (pas d'ajustement) NOAEC _{HEC} = 4000 mg/m ³ (facteur 1 par défaut)	300 UF _A = 3 (inter-espèce) UF _H = 10 (intra-espèce) UF _D = 10 (manque de données)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986
OEHHA (2005)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité (retard ossification)	Inhalation, Exposition chronique	REL = 30 mg/m ³	NOAEC = 4000 mg/m ³ NOAEC _{ADJ} = 1000 mg/m ³ (4000 * 6/24) NOAEC _{HEC} = 1000 mg/m ³ (facteur 1 par défaut)	30 UF _A = 3 (inter-espèce) UF _H = 10 (intra-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986
ATSDR (1998)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité (retard ossification)	Inhalation, Exposition Aiguë	MRL = 40 mg/m ³ (15 ppm)	NOAEC = 4000 mg/m ³ (1504 ppm) NOAEC _{ADJ} = 4000 mg/m ³ (pas d'ajustement) NOAEC _{HEC} = 4000 mg/m ³ (facteur 1 par défaut)	100 UF _A = 10 (inter-espèce) UF _H = 10 (intra-espèce)	Scortichini <i>et al.</i> , 1986

NOAEC_{ADJ} : NOAEC ajusté en fonction du temps

NOAEC_{HEC} : Concentration équivalente humaine (NOAEC_{HEC} = NOAEC_{ADJ} x λ_{animal} / λ_{homme} - λ étant le coefficient de partage sang / air)

Les VTR "académiques" sont élaborées pour la population générale. Ainsi, seules les DNEL élaborées pour la population générale seront comparées à ces VTR.

La DNEL dérivée pour les effets sur le développement et utilisant les coefficients de partage sang-air (Cas 1) est égale à 43 mg/m³. Elle prend en compte les informations toxicologiques disponibles sur le chloroéthane les plus récentes. Parmi les 2 DNEL calculées, cette dernière est la plus pertinente. La DNEL calculée ainsi est supérieure en valeur à l'ensemble des VTR "académiques" à savoir celles de l'OEHHA (30 mg/m³), de l'ATSDR (40 mg/m³) et de l'US EPA (10 mg/m³). Un facteur de 4,3 sépare la valeur numérique DNEL à la plus faible des VTR (US EPA) et un facteur 1,1 avec la VTR la plus élevée (ATSDR).

La méthodologie DNEL appliquée aux mêmes données que celles utilisées pour l'élaboration des VTR "académiques" conduit à une DNEL pour les effets sur le développement de 23 mg/m³ (Cas 2). Elle est alors inférieure aux VTR "académiques" de l'OEHHA (30 mg/m³), de l'ATSDR (40 mg/m³) d'un facteur 1,3 et 1,7, respectivement. Elle est supérieure à celle de l'US EPA (10 mg/m³) d'un facteur 2,3.

2.5.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

Cette comparaison méthodologique repose sur l'analyse des étapes de modification de la dose critique en une DNEL ou une VTR pour les effets sur le développement du chloroéthane. Elle devrait ainsi permettre d'identifier les sources potentielles de divergence numérique constatée ci-dessus.

2.5.2.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

La même étude clé (Scortichini *et al.*, 1986) a été retenue pour l'élaboration des VTR académiques et de la DNEL pour les effets sur le développement du chloroéthane. En conséquence, les données d'entrée utilisées sont identiques.

2.5.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

2.5.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

La méthodologie d'élaboration des DNEL comporte après la sélection de la dose critique, une étape d'ajustement de cette dose sur la base de différences d'absorption entre l'animal et l'homme, reposant sur les coefficients de partage air-sang. L'US EPA (1994), l'ATSDR et l'OEHHA (2000) utilisent également les coefficients de partage air-sang pour modifier la N(L)OAEC et calculer une concentration humaine équivalente. L'ajustement est dit dosimétrique. Les coefficients de partage entre sang et air n'étant pas connus pour le chloroéthane au moment où les VTR ont été élaborées, le rapport de ces coefficients a été considéré par défaut égal à 1. Pour la DNEL cas 1, la NOAEC de 4000 mg/m³ a été corrigée sur la base du rapport des coefficients (5,1 chez la souris /2,89 chez l'homme) soit d'un facteur 1,9. Ce facteur aurait été utilisé de la même manière par l'US EPA et l'OEHHA si les données avaient été disponibles.

Les ajustements sont numériquement équivalents mais ils sont réalisés par l'OEHHA et l'US EPA pour tenir compte des variations observées entre différentes espèces pour la dose réellement inhalée car les caractéristiques d'entrée d'un produit dans le système respiratoire sont fonction de paramètres physiques, anatomiques et physiologiques, qui varient considérablement d'une espèce à l'autre (Bonvallot et Dor, 2002). Selon le TGD, l'ajustement de la dose critique repose sur les différences d'absorption, il est indépendant de l'ajustement allométrique qui lui dépend des volumes respiratoires. Ces différences d'appréciation interviennent par la suite pour l'application du facteur d'incertitude inter-espèces.

2.5.2.2.2 AJUSTEMENT SUR LES CONDITIONS D'EXPOSITION

Dans l'étude de Scortichini *et al.* (1986), les souris ont été exposées 6h/j sans que la dose critique pour l'élaboration de la DNEL population générale n'ait été corrigée. En effet, l'ajustement sur les conditions d'exposition (facteur 6/24 pour la population générale), repose sur l'hypothèse d'un ajustement sur la loi de Haber simplifiée. Cet ajustement n'est pas valide pour des effets qui peuvent survenir après une seule exposition, c'est-à-dire qui sont dépendants de la concentration et non de la durée d'exposition.

L'ATSDR et l'US EPA n'ont pas effectué d'ajustement, pour les mêmes raisons. L'ATSDR considère que les effets foetotoxiques peuvent résulter de concentrations maximales plutôt que de durée totale de l'exposition. L'US EPA conformément à sa méthodologie, n'a pas ajusté pas le NOAEC car il s'agit d'effets sur le développement (US EPA, 1991).

Dans tous les cas, l'hypothèse est qu'une seule exposition à un moment critique dans le développement peut produire un effet néfaste sur le développement, c'est-à-dire que l'exposition répétée n'est pas une condition nécessaire. Néanmoins, l'OEHHA a appliqué le facteur de 6/24 pour déterminer une dose critique dite ajustée.

2.5.2.3 FACTEURS D'INCERTITUDE

2.5.2.3.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

Pour les VTR académiques, un facteur d'incertitude inter-espèces (UF_A) égal à 10 a été appliqué par l'ATSDR. La valeur de 10 repose sur des considérations de toxicocinétique et de toxicodynamie.

Le facteur inter-espèces de l'US EPA et de l'OEHHA repose sur les mêmes considérations mais dans le cas du chloroéthane, la valeur de 3 a été retenue. La valeur du facteur UF_A a été réduite à 3 en raison de la diminution de l'incertitude sur la composante toxicocinétique du fait de l'ajustement dit dosimétrique réalisé. L'US EPA et l'OEHHA considèrent que l'ajustement allométrique peut être pris en considération bien que les coefficients de partage sang-air utilisés dans le calcul du $NOAEC_{HEC}$ ne soient pas disponibles et que le rapport de ces coefficients ait été pris par défaut égal à 1. Ils considèrent donc que le comportement de la molécule toxique est identique chez l'homme et chez l'animal. L'utilisation de cette valeur par défaut ne devrait pourtant pas permettre de réduire le facteur d'incertitude inter-espèces puisque aucune donnée pertinente ne vient conforter l'hypothèse de comportement similaire (Bonvallot et Dor, 2002).

Le facteur d'incertitude inter-espèces pour la DNEL est de 17,5. Dans l'établissement des DNEL par inhalation, l'incertitude liée à l'extrapolation inter-espèces est prise en considération par l'application du facteur de 2,5 pour les incertitudes liées à la toxicodynamie (et les différences de cinétique non prises en compte par l'ajustement allométrique)¹³. Par ailleurs, dans le cas du chloroéthane, le facteur d'ajustement allométrique ($AS=7$ chez la souris) a été appliqué car la dose critique n'a pas été ajustée sur les volumes respiratoires à l'étape b, le TGD ne donnant pas l'information. L'ajustement allométrique (par l'intermédiaire du facteur AS ou de l'ajustement sur les volumes respiratoires) est dépendant de l'espèce étudiée. Ici, l'étude source étant menée chez la souris, le facteur AS est de 7 et le facteur inter-espèces est de 17,5. Ce dernier aurait été équivalent à celui de la VTR (10) dans le cas d'une étude menée chez le rat ($AS=4$).

Ainsi, il semble qu'il n'y ait pas de méthode parfaitement appropriée pour l'extrapolation inter-espèces, les méthodologies proposées pour les VTR académiques ou pour les DNEL sont ainsi scientifiquement justifiées mais différentes (Cf. § 1.5 et 1.8).

2.5.2.3.2 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur classiquement retenu de 10 a été retenu à la fois pour l'élaboration des VTR " académiques " et des DNEL.

¹³ L'ajustement de la dose critique sur les différences d'absorption (coefficients de partage air-sang) effectué à l'étape b consiste en un ajustement sur l'absorption et la biodisponibilité et non sur la cinétique et n'influe donc pas sur la valeur du facteur d'incertitude inter-espèces

2.5.2.3.3 TRANSPOSITION DE DUREE SUBCHRONIQUE A CHRONIQUE (UFs)

Cette transposition n'est pas effectuée dans le cas d'effets sur le développement, ni selon la méthodologie européenne, ni selon l'US EPA ou l'OEHHA. Quant à l'ATSDR, la MRL est dérivée pour une exposition aiguë, aucune transposition n'est nécessaire.

2.5.2.3.4 QUALITE DES DONNEES

Les méthodologies VTR et DNEL proposent l'application d'un facteur supplémentaire éventuel lié à la connaissance du profil toxicologique de la substance et la qualité de l'étude retenue pour l'établissement de la DNEL/VTR. L'application de ce facteur fait intervenir le jugement d'expert.

L'US EPA a appliqué un facteur 10 pour tenir compte du manque de données sur la toxicité du chloroéthane, notamment l'absence d'étude sur le développement chez une autre espèce que la souris et l'absence d'étude de reproduction sur deux générations. L'ATSDR et l'OEHHA n'ont pas appliqué de facteur.

Pour l'établissement de la DNEL, aucun facteur n'a été appliqué. D'autres études seraient nécessaires pour confirmer la toxicité pour le développement de chloroéthane (seconde espèce) et la pertinence de transposer les effets à l'homme (ATSDR, 1998). Les cibles de toxicité liées à une exposition au chloroéthane pourraient être mieux définies. Les arguments avancés par l'US EPA paraissent fondés.

En outre, le profil toxicologique du chloroéthane est jugé suffisant pour apprécier le niveau de concentration nécessaire à l'apparition d'effets néfastes (chez l'animal) et comme l'étude retenue est bien menée, aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

2.6 CONCLUSION

De nombreuses similitudes existent dans les méthodologies d'élaboration des DNELs et des VTR. Dans le cas des effets sur le développement du chloroéthane, par exemple, les doses critiques peuvent être ajustées pour les différences d'absorption entre animal et homme sur la base des coefficients de partage air-sang. De même, l'ajustement sur les conditions d'exposition (6h/j) n'est pas réalisé dans le cas des effets sur le développement (sauf par l'OEHHA).

Toutefois, quelques points clés importants sont à souligner. Le facteur d'incertitude lié à la qualité des données étant lié au jugement d'expert, seul l'US EPA se distingue en ayant appliqué un facteur 10 alors qu'il est de 1 pour les autres instances et pour la DNEL.

Par ailleurs, le facteur d'incertitude inter-espèces est là encore une des causes de divergence numérique entre la DNEL et les VTR. A étude source et hypothèses équivalentes, la VTR de l'ATSDR se distingue numériquement de la DNEL cas 2 d'un facteur 1,75. Cette divergence est liée uniquement à la différence dans la composition du facteur d'incertitude inter-espèces : 10 pour la VTR et 17,5 (7x2,5) pour la DNEL. Contrairement à l'EGEE où le facteur d'incertitude était inférieur à celui de la VTR (6 vs 10) car l'étude était menée chez le lapin, ici le facteur d'incertitude inter-espèces est supérieur (17,5 vs 10) car l'étude source est menée chez la souris. Ainsi, le facteur d'incertitude repose sur l'espèce étudiée, l'impact numérique peut être une DNEL plus conservatrice pour la santé (par exemple dans le cas d'une étude chez la souris) ou non (exemple d'une étude lapin). Ainsi, cette étude de cas pour les effets sur le développement du chloroéthane souligne qu'il est possible d'obtenir la même valeur de

référence (DNEL ou VTR) en utilisant les mêmes données sources, dans le cas où ce sont des facteurs par défaut qui sont utilisés, lors de l'exploitation d'une étude chez le rat car dans ce cas, les raisonnements DNEL et VTR conduisent à l'application du même facteur d'incertitude inter-espèces. Il convient toutefois de préciser que cette constatation repose sur la comparaison entre DNEL et VTR américaines (dans cet exemple, US EPA, OEHHA, ATSDR) et pas avec une VTR élaborée selon la dernière révision de la méthodologie européenne qui utilisait le facteurs AS (ECB, 2006)¹⁴.

S'agissant de la DNEL cas 1, l'ajustement de la dose critique sur les différences d'absorption permet d'obtenir une DNEL plus affinée. Cette valeur de DNEL, moins conservatrice pour la santé, est le reflet d'une meilleure connaissance de la substance et donc plus pertinente. Cet exemple souligne ainsi l'intérêt d'utiliser toutes les données disponibles sur le profil cinétique et toxicologique des substances pour permettre l'élaboration de DNEL plus affinées.

2.7 REFERENCES

1. ATSDR, 1998. Toxicological Profile for Chloroethane. Agency for Toxic substances and Disease Registry: Research Triangle Institute.
2. Baars A.J., Theelen R.M.C., Janssen P.J.C.M., et al., 2001. Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels. 2001, RIVM, Rijnsinstituut voor volksgezondheid en milieu.
3. Bucher JR Morgan DL, Adkins B Jr, et al. 1995. Early changes in sex hormones are not evident in mice exposed to the uterine carcinogens chloroethane or bromoethane. *Toxicol Appl Pharmacol* 130: 169-173.
4. ECHA, 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment ; Chapter R.8 : Characterisation of dose [concentration]-response for human health. http://echa.europa.eu/REACH_en.asp
5. Gargas ML, Burgess RJ, Voisard DE, Cason GH, and Andersen ME. 1989. Partition coefficients of lowmolecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 98(1):87-99
6. Gargas ML, Sweeney LM, Himmelstein MW et al., 2008. Physiologically based Pharmacokinetic Modeling of Chloroethane Disposition in Mice, Rats, and Women. *Toxicological Sciences* 104(1), 54-66 (2008).
7. Hanley, TR, Jr. ; Scortichini, BH; Johnson, KA, Momany-Pfruender, JJ. (1987) Effects of inhaled ethyl chloride on fetal development in CF-1 mice. *Toxicologist* 7: 189.
8. NTP. 1989. Toxicology and carcinogenesis studies of chloroethane (ethyl chloride) (CAS No. 75-00-3) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). National Toxicology Program. Research Triangle Park, NC. NTP Technical Report Series No. 346. NTIS No. PB90-225053.
9. OEHHA, 2000 - Office of Environmental Health Hazard Assessment, Technical Support Document for the Determination of Non Cancer Chronic Reference Exposure Levels, California Environmental Protection Agency, Oakland, 41p., <http://www.oehha.ca.gov/air.html>
10. OEHHA, 2005. REL Ethyl chloride. Office of Environmental Health Hazard Assessment.
11. Scortichini BH, Johnson KA, Momany-Pfruender JJ, et al. 1986. Ethyl chloride: Inhalation teratology study in CF-1 mice. Dow Chemical Company, Mammalian and Environmental Toxicology Research Laboratory, Health and Environmental Sciences, Midland, MI. NTIS no. OTS0001135.
12. US EPA, 1991. Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, EPA/600/FR-91/001).
13. US EPA. 1994. United States Environmental Protection Agency, Methods for Derivation of Reference Inhalation concentrations and application of inhalation dosimetry, Washington DC,, 389p. <http://www.epa.gov/nscep/> ou <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=71993>

¹⁴ La méthodologie européenne révisée en 2006 préconise un facteur d'incertitude inter-espèces différent de 10 et lié à l'espèce (7 pour la souris). Voir exemple du chloroforme (§ 4.5).

3. ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DU BORE (7440-42-8)

3.1 BORE ET COMPOSES

Le bore est un élément naturel répandu. Il n'est pas retrouvé sous forme élémentaire mais sous forme liée à l'oxygène, généralement sous forme de borates (alcalins ou alcalino-terreux) ou d'acide borique. L'élément bore est peu utilisé mais l'acide borique et les sels de sodium de bore sont largement employés pour une variété d'applications industrielles comme la fabrication de verre, les métaux et des alliages (...). Ils sont également utilisés comme engrais (le bore est un élément essentiel pour les végétaux), herbicides (à de fortes concentrations, le bore est toxique pour certaines espèces végétales) et insecticides.

Par la suite, le terme bore sera utilisé dans un sens générique en référence à la teneur en bore de l'acide borique et des borates inorganiques puisque le bore élémentaire n'existe pas dans un état libre dans la nature.

Les différentes étapes de la construction de DNEL pour les effets reprotoxiques du bore et ses composés, selon la méthodologie décrite dans le TGD (ECHA, 2008), sont présentées ci-dessous. La synthèse sur la toxicité du bore et de ses composés présentée ci-dessous s'appuie sur les données rapportées dans le profil toxicologique de l'US EPA (2004) et les monographies de l'ATSDSR (2007, draft) et de l'OMS (2003).

3.2 TOXICITE DU BORE ET DE SES COMPOSES

La voie principale d'exposition de la population générale est l'ingestion de nourriture, et d'eau de boisson. Chez l'animal, après administration répétée par voie orale à des doses supérieures ou égales à 60 mg/kg-j, des effets sur le système hématopoïétique ont été rapportés (diminution de l'hématopoïèse splénique et diminution de l'hémoglobine sanguine) ainsi qu'une desquamation de la peau. Cependant, ce sont les testicules et le fœtus qui ont été identifiés comme les organes cibles les plus sensibles à la toxicité du bore (ATSDR, 2007 ; US EPA, 2004), par exemple des effets sur le fœtus sont rapportés chez le rat dès 13 mg/kg-j. Ces effets sur la reproduction n'ont pas été observés chez l'homme d'après une étude en population humaine turque avec des niveaux élevés de sels de borate dans l'eau potable (9-25 mg B/litre) (Sayli *et al.*, 1998, cité dans US EPA, 2004), ni d'après une étude transversale en Chine (Chang *et al.*, 2006, cité dans ATSDR, 2007) (étude sur les conditions de vie de travailleurs, concentrations d'exposition non rapportées).

Par inhalation, la littérature concernant la toxicité de bore est rare. Chez des rats exposés à 77 mg/m³ d'oxyde de bore en aérosol (24 mg B/m³) pendant 24 semaines, aucun effet n'a été rapporté mais les effets sur les testicules n'ont été examinés qu'au moyen d'une analyse histopathologique réduite. L'analyse du sperme de 28 travailleurs russes exposés pendant 10 ans ou plus à des niveaux élevés (22-80 mg/m³) de sels de bore sous forme de vapeurs et d'aérosols, au cours de la production d'acide borique, a révélé chez 6 d'entre eux une diminution du nombre de spermatozoïdes, une réduction de la motilité des spermatozoïdes et des concentrations élevées en fructose dans le liquide séminal. Les données sont d'une valeur limitée en raison du manque de détail et de la petite taille de l'échantillon. Ces effets n'ont pas été confirmés par d'autres études d'inhalation mais sont compatibles avec les effets sur les testicules mis en évidence dans les études par voie orale (ATSDR, 2007). Aucun effet sur la fertilité n'a été observé dans une étude de cohorte américaine chez des travailleurs exposés mais les

concentrations d'exposition étaient beaucoup plus faibles dans cette étude (2,23 mg/m³ borate de sodium ou 0,31 mg B/m³).

Le bore n'est pas classé dans les bases consultées (IARC, US EPA et UE). Au niveau européen, il est proposé de classer l'acide borique (CAS N°10043-35-3), et l'acide borique brut naturel (CAS N°11113-50-1, ne contenant pas plus de 85 % de H₃BO₃ calculé en poids à sec) comme reprotoxiques catégorie 2 (R60-61).

Ces différentes informations mettent en évidence qu'il est pertinent de proposer des VTR ou des DNEL reprotoxiques pour le bore après une exposition par voie orale.

3.3 EFFETS CRITIQUES (REPRODUCTION ET DEVELOPPEMENT)

Les effets sur la fertilité ont été mis en évidence chez 3 espèces : rat, souris et chien. Les effets sur les testicules rapportés sont une atrophie, une diminution du poids et du ratio poids/poids corporel et des lésions histologiques (dégénérescence de l'épithélium). Des effets sur la spermatogenèse ainsi qu'une réduction de la fécondité et de la stérilité ont été observés (Fail *et al.*, 1991, NTP, 1987, Ku *et al.*, 1993, Dieter, 1994, Weir et Fisher 1972, Seal et Weeth 1980, Dixon *et al.*, 1979, Lee *et al.*, 1978, Yoshizaki *et al.*, 1999, Kudo *et al.*, 2000, Harris *et al.*, 1992, cités dans ATSDR, 2007).

Les effets sur le développement ont été rapportés chez la souris, le lapin et le rat (US EPA, 2004). Les effets observés après exposition au bore sont une fœto-toxicité (mortalité prénatale élevée, réduction du poids du fœtus), une augmentation des malformations et des variations des yeux, du SNC, du système cardiovasculaire, et du squelette (Price *et al.*, 1996a et 1996b ; Field *et al.*, 1989 ; Heindel *et al.*, 1992 ; NTP, 1989 ; NTP, 1991a et 1991b, Harris *et al.*, 1992, Ku *et al.*, 1993, Cherrington et Chernoff 2002, cités dans ATSDR, 2007). D'après les relations dose-réponse, les rats sont plus sensibles que les souris et les lapins avec la dose d'exposition la plus faible mettant en évidence des effets chez le rat identifiée à 13 mg/kg-j (NOAEL de 9,6 mg/kg-j) (ATSDR, 2002).

3.3.1 MECANISME D'ACTION

La présence d'effets sur les testicules en l'absence de toxicité systémique indique un mécanisme d'action spécifique. Bien que de nombreuses études aient été effectuées, le mécanisme du bore pour la toxicité testiculaire reste inconnu. Les données disponibles suggèrent un effet sur les cellules de Sertoli, résultant d'une altération du contrôle physiologique de la maturation des spermatozoïdes et de leur libération (US EPA, 2004).

Les études sur le mécanisme toxique du bore pour le développement ont été examinées par Fail *et al.* (1998, cité dans US EPA, 2004). Les deux effets critiques chez les rongeurs en développement sont la diminution du poids du fœtus et les malformations et variations des côtes. Fail *et al.* (1998) ont conclu que la diminution de la croissance du fœtus résultait probablement d'une l'inhibition de la mitose produite par l'acide borique, comme cela a été montré dans les études sur les testicules de mammifères, d'insectes, levures, champignons, les bactéries et les virus, tandis que les malformations des côtes seraient probablement le résultat direct de la liaison du bore au tissu osseux. Plus récemment, des enquêtes sur les effets sur le développement de l'acide borique suggèrent l'implication de la modification de l'expression d'un gène.

Cohérence des données animales et humaines

De nombreuses études chez l'animal sont disponibles, menées au sein de plusieurs espèces et mettant en évidence des effets sur la fertilité et des effets sur le développement. Même si le mécanisme d'action n'est pas clairement élucidé et qu'il n'est pas possible de dire si le mode d'action est transposable à l'homme, aucune information ne vient contredire cette hypothèse. Les études épidémiologiques ne sont pas suffisantes pour démontrer l'absence d'effets sur la fertilité. Aussi, ces effets sont jugés transposables à l'homme et sont retenus comme effets critiques pour l'établissement de DNEL.

3.4 CONSTRUCTION DES DNEL POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES PAR INGESTION DE BORE

Concernant la voie orale, le TGD juge pertinent de n'élaborer des DNELs que pour la population générale.

3.4.1 ETAPE A: SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES POUR LES EFFETS REPROTOXIQUES DU BORE

Dans le cadre de l'analyse comparative VTR académiques et DNEL, l'élaboration de la DNEL s'est appuyée sur la même étude clé que celle retenue par les instances ayant élaboré les VTR.

L'ATSDR et l'US EPA se sont appuyées sur l'étude de Allen *et al.* (1996) dans laquelle les auteurs ont utilisé les données combinées de Price *et al.* (1996) et Heindel *et al.* (1992) afin de déterminer une BMD₀₅ de 10,3 mg/kg/j pour une diminution du poids des fœtus. L'OMS a estimé sa TDI à partir de l'étude de Price *et al.* (1996), le NOAEL retenu dans cette étude pour les effets sur le développement (diminution du poids des fœtus) est de 9,6 mg/kg/j.

Le TGD précise que l'approche de la benchmark dose doit être préférée, quand cela est possible, à l'utilisation d'un LOAEL. Si un NOAEL est disponible, ainsi qu'une BMD, le TGD propose d'utiliser la BMD en parallèle au NOAEL. Les deux doses critiques NOAEL et BMD étant disponibles dans le cas des effets reprotoxiques du bore, les deux approches NOAEL et BMD seront suivies pour l'élaboration de la DNEL. Une DNEL sera ensuite sélectionnée.

Dans l'étude de Allen *et al.* (1996), comme les auteurs ont utilisé les données combinées de Price *et al.* (1996) et Heindel *et al.* (1992), afin de déterminer la BMD₀₅, le détail et l'évaluation de la qualité scientifique de ces études sont présentés ci-dessous.

Allen et al., 1996

Dans cette étude, les auteurs ont utilisé les données combinées de Price *et al.* (1996) et Heindel *et al.* (1992), afin de déterminer une BMD₀₅ de 10,3 mg/kg/j pour une diminution du poids des fœtus.

La diminution du poids des fœtus a été retenue comme effet critique car les doses critiques associées étaient les plus basses pour cet effet. Les changements de poids du fœtus ont été analysés en prenant la moyenne du poids fœtal pour chaque portée (fœtus vivants). Ces moyennes ont été considérées pour représenter les variations d'une variable continue, et un modèle d'analyse de variables continues a été utilisé.

Price et al., 1996

- **Espèce étudiée** : rat SD.
- **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 60 / dose, femelles.
- **Voie d'exposition** : par la nourriture.
- **Substance et forme chimique** : acide borique, pureté 98-99%.
- **Temps et fréquence d'exposition** : du 1^{er} au 20^{ème} jour de gestation (gd).
- **Doses d'exposition** : 0,025 - 0,05 - 0,075 - 0,1 ou 0,2 % d'acide borique équivalent à 19, 36, 55, 76 ou 143 mg d'acide borique /kg pc/j, soit 3,3 - 6,3 - 9,6 - 13 ou 25 mg B /kg pc/j.
- **Groupe témoin** : oui.
- **Détail du protocole expérimental** : cette étude a pour objectif de déterminer un NOAEL pour les effets sur le développement chez le rat. La moitié des femelles gestantes a été sacrifiée au jour de gestation (gd) 20 (phase I), l'autre moitié est allée jusqu'à parturition (phase II). Chez les mères, les signes cliniques, le poids et la consommation de nourriture ont été mesurés à intervalles réguliers, pendant la gestation (et la lactation pour la phase II). S'agissant de la phase II, la croissance des petits et leur viabilité ont été suivies jusqu'au jour postnatal 21 (pnd 21). A la fin de l'expérience, les poids du foie et des reins ont été déterminés chez les mères (gd 20 et pnd 21) ; les fœtus vivants (gd 20) et les nouveau-nés (pnd 21) ont été pesés, examinés pour détecter des éventuelles anomalies morphologiques et leur sexe a été déterminé.
- **Effet(s) observé(s)** : chez les mères, seule une augmentation du poids relatif des reins a été observée pour la plus forte dose. La viabilité des fœtus n'a pas été impactée par le traitement. A gd 20 (phase I), les poids moyens des fœtus exposés aux plus fortes doses étaient légèrement inférieurs à celui des témoins (respectivement 94 et 88 % du poids des témoins), mais ce retard n'a pas persisté au cours de la période postnatale (phase II). Aucune malformation externe ou viscérale n'a été mise en évidence à gd 20 ou pnd 21. A gd 20, une augmentation statistiquement significative de l'incidence des effets suivants, sur le développement squelettique, a été observée pour les 2 plus fortes doses :
 - augmentation de l'incidence du raccourcissement de la côte n°13 (malformation) ; pourcentages des fœtus affectés : 0-0,2-0,7-1,5-3,4%, de la plus faible à la plus forte dose) ;
 - augmentation de l'incidence de côte ondulée (variation) ; pourcentages des fœtus affectés : 0,4-0,9-2,1-10%, de la plus faible à la plus forte dose) ;

- diminution de l'incidence d'une côte supplémentaire en lombaire I (variation) à la plus forte dose.

Chez les nouveau-nés (pnd 21), le seul effet observé est l'augmentation de l'incidence du raccourcissement de la côte n° 13, à la plus forte dose.

- **Conclusion / Possibilité de déterminer un NOAEL** : à partir de 0,1 %, des effets sur le développement des fœtus sont observés, en l'absence de toxicité maternelle pouvant être à leur origine. Au 20^{ème} jour de gestation, le NOAEL est donc fixé à 0,075 % d'acide borique soit 55 mg/kg pc-j d'acide borique ou 9,6 mg B/kg pc/j.
- **Qualité de l'étude** : 2

Heindel *et al.*, 1992

- **Espèce étudiée** : rat (SD) et souris (Swiss albino), ici ne sera rapporté que le rat.
- **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 26-28 / dose, femelles.
- **Voie d'exposition** : via la nourriture.
- **Substance et forme chimique** : acide borique, pureté 99%.
- **Temps et fréquence d'exposition** : 1^{er} au 20^{ème} jour de gestation (gd).
- **Doses ou concentrations d'exposition** : 0 - 0,1 - 0,2 ou 0,4 % d'acide borique équivalent à 0 - 78 - 163 ou 330 mg d'acide borique /kg pc-j soit 0 - 13,6 - 28,5 ou 57,7 mg B/kg pc/j. Un groupe supplémentaire de rat a reçu 94 mg B/kg pc/j de bore (0,8 %) seulement entre gd 6 et 15, période d'organogenèse majeure afin de limiter les pertes pré-implantatoires et l'embryolétalité précoce.
- **Groupe témoin** : oui.
- **Détail du protocole expérimental** : chez les mères, les signes cliniques, le poids et la consommation de nourriture ont été mesurés à intervalles réguliers pendant toute la grossesse. A gd 20, les animaux ont été sacrifiés : le foie, les reins et les utérus intacts ont été pesés et le nombre de corps jaunes déterminé. Des reins maternels (choisis de manière aléatoire, 10/groupe) ont été soumis à un examen microscopique. Les fœtus vivants ont été pesés et examinés afin de détecter les malformations externes, viscérales ou squelettiques.
- **Effet(s) observé(s)** : l'exposition aux doses supérieures ou égales à 0,2 % entraîne une augmentation du poids relatif des reins et du foie ($\geq 0,2$ %), une diminution de la consommation d'eau et de nourriture ($\geq 0,2$ %), ainsi qu'une diminution de la prise de poids ($\geq 0,4$ %). Le poids moyen des fœtus par portée est diminué pour toutes les doses, la mortalité prénatale est accrue uniquement pour 0,8 %. L'incidence des malformations augmente dès 0,2 % (anomalies des yeux, du CNS, élargissement des ventricules latéraux du cerveau, agénésie ou raccourcissement de la cote 13).
- **Conclusion / Possibilité de déterminer un NOAEL** : chez les rats, le NOAEL pour les effets maternels est de 78 mg/kg d'acide borique (0,1 %). Concernant les effets sur le développement, aucun NOAEL ne peut être déterminé car les effets apparaissent pour toutes les doses testées : le LOAEL est donc fixé à 78 mg d'acide borique /kg pc (0,1 %) soit 13,6 mg B/kg pc.
- **Qualité de l'étude** : 2

Le tableau 14 ci-après présente les études de Allen *et al.* (1996) Price *et al.* (1996) et Heindel *et al.* (1992) ayant permis de proposer une relation dose-réponse pour les effets reprotoxiques du Bore : NOAEL/LOAEL/BMD.

Tableau 40 : Doses critiques définies pour les effets sur le développement du Bore et retenues pour l'élaboration des VTR/DNEL

Etude retenue	Dose critique établie	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Allen <i>et al.</i> , 1996	BMDL ₀₅ =10,3 mg/kg-j	Ingestion - Gd0-Gd20	Effet sur le développement - diminution du poids des fœtus BMDL le plus faible est associé à la diminution du poids des fœtus (analyse sur la moyenne des portée) Autres effets retenus pour la modélisation : Nombre de cotes	Rat SD
Price <i>et al.</i> , 1996	NOAEL=9,6 mg B/kg-j	Ingestion - Gd0-Gd20	Effet sur le développement : diminution du poids des fœtus et malformations squelettiques : raccourcissement de la côte n° 13 ou côtes surnuméraires Autres effets observés A 25 mg/kg-j, augmentation du poids rénal maternel	Rat SD
Heindel <i>et al.</i> , 1992	LOAEL=13,6 mg B/kg-j	Ingestion - Gd0-Gd20	Effet sur le développement : diminution du poids des fœtus Autres effets observés A la dose de 29 mg/kg-j, * malformations telles que : anomalies des yeux, du CNS, élargissement des ventricules latéraux du cerveau, agénésie ou raccourcissement de la cote 13 * toxicité maternelle	Rat SD

3.4.2 ETAPE B: MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACH, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

3.4.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Il est généralement considéré que l'absorption par voie orale est identique chez l'animal et l'homme. Dans le cas du bore, en l'absence de données particulières, l'hypothèse est conservée et la dose critique n'est pas corrigée à cette étape.

3.4.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

3.4.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Lorsque les conditions expérimentales chez l'animal diffèrent des conditions envisagées chez la population cible, le TGD indique qu'il convient d'ajuster les doses d'exposition lorsque l'effet toxique est induit par la dose totale (cumulée) ou s'il dépend à la fois de la dose cumulée et de la concentration d'exposition ; en outre, il est inadapté lorsque l'effet toxique est dépendant prioritairement de la concentration d'exposition. Les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (fenêtre de sensibilité) aussi l'ajustement sur les conditions d'exposition n'est pas approprié pour l'établissement de DNELs. De plus, comme il s'agit d'une exposition voie orale par ingestion de nourriture, l'exposition est continue et aucun ajustement n'est nécessaire.

3.4.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

Cet ajustement n'est pas pris en compte dans le cas d'une exposition voie orale.

3.4.3 ETAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

3.4.3.1 EXTRAPOLATION INTER ESPECES

La procédure par défaut du TGD consiste à corriger les différences de taux métabolique entre les espèces (ajustement allométrique, facteur AS), puis à appliquer un facteur supplémentaire de 2,5 pour les différences toxico-dynamiques et toxico-cinétiques non liées au taux métabolique. De plus, les informations spécifiques à une substance peuvent être utilisées pour déterminer les différences inter-espèces. Ici, les données de cinétique du bore vont permettre de prendre en compte les différences de cinétique liées à la taille ainsi que celles liées au métabolisme (bioactivation et/ou désintoxication). Cet ajustement n'est donc pas seulement lié à la demande énergétique de l'espèce étudiée. Sur la base des recommandations du TGD, la manière d'utiliser les données de toxicocinétique du bore pour ajuster le facteur AS et/ou le facteur 2,5 n'apparaît pas évidente.

Malgré l'absence d'information claire du TGD, il a été jugé intéressant d'utiliser les informations toxicocinétiques du bore et d'ajuster le facteur AS. L'ajustement s'appuie sur le document de l'OMS pour l'élaboration de facteurs ajustés (Chemical Specific Adjusted Factors) (WHO/IPCS, 2005). Les éléments de cinétique du bore sont issus de la monographie de l'US EPA (2004) et des publications de Murray (1995, 1998) et de Dourson *et al.* (1998).

Eléments de toxicocinétique du bore

Chez l'homme comme chez l'animal, le bore est facilement absorbé, peu métabolisé et éliminé majoritairement dans les urines : plus de 90% d'une dose administrée par voie orale de l'acide borique est excrétée sous forme inchangée dans l'urine chez l'homme et les rongeurs (US EPA, 2004 ; Murray, 1998).

Le bore est largement distribué dans les tissus chez le rat (foie, reins, muscles, cerveau, testicules,...). La diffusion est passive et libre à travers les membranes biologiques, rendant la distribution homogène (à l'exception d'une accumulation dans l'os). Il est ainsi possible de considérer que la concentration d'exposition maternelle reflète celle des fœtus. D'après les données disponibles, il semble raisonnable de supposer que la distribution du bore chez l'homme soit similaire à celle observée chez les rongeurs (US EPA, 2004 ; Murray, 1998).

La concentration d'exposition (dose interne) est par ailleurs assimilée à la concentration plasmatique moyenne (aire sous la courbe de la relation temps/concentration plasmatique) car la toxicité du bore est dépendante de la concentration et du temps d'exposition (US EPA, 2004).

Ainsi, la clairance rénale est ainsi identifiée comme facteur clé de la toxicocinétique : elle est inversement proportionnelle à la concentration plasmatique (dose interne) et permet de comparer les concentrations d'exposition des animaux et des hommes. L'ajustement va ainsi reposer sur les données de clairance rénale en considérant le rapport des volumes de distribution entre les rats et les humains. Les effets sur le développement étant concernés, les valeurs de clairance chez les femelles rats gestantes et les femmes enceintes sont utilisées.

La clairance moyenne chez le rat gestant a été déterminée à 1mL/min (Vaziri *et al.*, 2001) et à 66,1 mL/min chez les femmes enceintes (Pahl *et al.*, 2001 ; Borax, 2001 cité dans US EPA, 2004). Les poids corporels dans les études étaient de 0,303 kg pour le rat et 67,6 kg pour les femmes enceintes, ainsi les clairances rénales ont été calculées comme suit : 3,3 mL/min-kg chez le rat (Cl_r) et 0,98 mL/min-kg chez la femme (Cl_h). L'absorption depuis le tractus gastro-intestinal a été prise à 0,95 % pour le rat (Vanderpool *et al.*, 1994, cité dans US EPA, 2004) et 0,92 % pour l'homme (Schou *et al.*, 1984 ; Jansen *et al.*, cités dans Murray, 1998).

La composante toxicocinétique, que l'on assimilera au facteur AS, est ainsi calculée à 3,3 selon la formule :

$$AS = \frac{[Cl_r \times F_{ah}]}{[Cl_h \times F_{ar}]}$$

En conséquence, les facteurs d'incertitude appliqués, liés aux variations inter-espèces, sont les suivants :

- ◆ Facteur AS (rat) : 3,3
- ◆ Un facteur pour les différences résiduelles égal à 2,5

Soit un facteur d'incertitude lié aux variations inter-espèces d'une valeur de 8,25.

3.4.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

La méthodologie DNEL préconise l'utilisation de données spécifiques d'une substance pour ajuster le facteur d'incertitude, en suivant les recommandations du document OMS DRC-08-94380-12195A

(WHO/IPCS, 2005). L'OMS recommande de fractionner le facteur d'incertitude par défaut de 10 en 3,16 pour les composantes toxicocinétique et toxicodynamique, chacune de ces composantes pouvant être ajustée en fonction des données disponibles sur la substance étudiée.

▪ **Détermination de la composante toxicocinétique selon les lignes directrices OMS :**

- ✓ **Identification de la fraction active :** le bore est peu métabolisé, il est identifié comme la substance active.
- ✓ **Choix du paramètre de toxicocinétique pertinent :** la clairance rénale est identifiée comme facteur clé de la toxicocinétique.
- ✓ **Données expérimentales :** L'étude de Pah *et al.* (2001) donne la clairance rénale chez des femmes enceintes mais compte tenu du petit échantillon de l'étude (n=16), elle n'est pas appropriée pour déterminer la variabilité interindividuelle.

La concentration plasmatique du bore est modifiée lors de la gestation. Des études (US Borax, 2000, cité dans US EPA, 2004 ; Pahl *et al.*, 2001 ; Vaziri *et al.*, 2001) ont montré que la clairance rénale du bore chez les rats femelles était plus importante et que le bore était éliminé de manière un peu plus efficace chez les femelles rats gestantes et les femmes enceintes que les rats et les femmes non gestantes. Les différences de clairance rénale du bore sont les suivantes : 3,6 entre femelle gestante et femme enceinte, 4,9 entre femelle non gestante et femme.

De plus, les variations de clairance au cours de la grossesse sont liées aux variations physiologiques du débit de filtration glomérulaire (Dourson *et al.*, 1998). Des données sur le débit de filtration glomérulaire (DFG) chez des femmes enceintes sont proposées par Dourson *et al.* (1998). L'US EPA (2004) souligne toutefois l'utilisation des DFG pour estimer les variations de clairance rénale peut surestimer la variabilité interindividuelle car les variations de DFG mises en évidence sont supérieures à celles observées pour la clairance rénale.

- ✓ **Calcul de la composante toxicocinétique :** Trois études [Dunlop (1981), Krutzen *et al.* (1992), Sturgiss *et al.* (1996) ; cités dans Dourson *et al.* 1998 et US EPA, 2004] ont permis d'estimer la moyenne du DFG à 144 mL/min et l'écart-type à 22% (sur la valeur moyenne en fin de grossesse). La moyenne du DFG (144 mL/minute) a été divisée par le DFG à deux écarts types en dessous de la moyenne (80 mL/minute) pour prendre en compte la variabilité chez 95% de la population, le ratio est ainsi de 1,8.
- ✓ **Considération des populations sensibles :** Aucune donnée de clairance spécifique chez l'enfant n'est disponible. Toutefois, considérant que le flux rénal est supérieur chez l'enfant, le bore sera éliminé plus rapidement et le facteur d'incertitude prend en compte cette population. Par ailleurs, les données utilisées concernent l'exposition de femmes enceintes, catégorie de population sensible.

▪ **Composante toxicodynamie**

Les informations disponibles ne permettent pas d'ajuster le facteur par défaut qui est donc retenu : 3,16.

Ainsi, le facteur d'incertitude appliqué pour la DNEL concernant les effets reprotoxiques du bore pour la population générale est de :

$$1,8 \times 3,16 = 5,7$$

3.4.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La durée d'exposition dans les études retenues (Allen *et al.*, 1996 ; Price *et al.*, 1996) est de 20 jours pendant la gestation mais les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (à un moment critique). La DNEL dérivée du NOAEL ou de la BMD issue de ces études sera donc de type aiguë et applicable pour les femmes enceintes ou en âge de procréer. De ce fait, il n'est pas nécessaire d'appliquer un facteur d'incertitude pour l'inadéquation de la durée d'exposition de l'étude expérimentale utilisée (AF = 1).

3.4.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Un NOAEL et une BMD ont été mis en évidence dans l'étude retenue. De ce fait, ce facteur d'incertitude ne s'applique pas.

3.4.3.5 QUALITE DES DONNEES

Les effets reprotoxiques ont été identifiés comme effet critique chez les animaux exposés par voie orale. Les études retenues sont bien menées, elles définissent une relation dose-réponse claire et sont jugées de bonne qualité. Ainsi, aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

3.4.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global à appliquer à la dose critique corrigée est égal à $8,25 \times 5,7$ soit 47.

Calcul de la DNEL développement :

Deux DNEL voie orale pour les effets sur le développement du bore peuvent être élaborées selon la dose critique retenue BMD ou NOAEL :

√ A partir du NOAEL :

- Pour la population générale : $DNEL = 9,6/47 = 0,20 \text{ mg/kg-j}$

√ A partir de la BMD :

- Pour la population générale : $DNEL = 10,3/47 = 0,22$ arrondi à $0,20 \text{ mg/kg-j}$

Les DNEL obtenues sont numériquement identiques, car les valeurs numériques du NOAEL et de la BMD sont très proches. Cette étude de cas ne permet pas de se prononcer sur la préférence de l'utilisation d'une BMD lorsqu'un NOAEL est disponible. La DNEL calculée à partir du NOAEL sera retenue par la suite car le résultat sans l'arrondi est légèrement inférieur. Le calcul des DNELs pour les effets sur le développement du bore est présenté dans le tableau 15. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 16.

Tableau 41 : Calcul des DNEL population générale pour l'effet sur le développement du Bore

	Price et al., 1996	Allen et al., 1996
<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>		
Dose critique retenue	NOAEL = 9,6 mg/kg-j	BMD = 10,3 mg/kg-j
<i>Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustement</i>		
Différences d'absorption animal / homme		
Ajustement de la voie d'exposition		
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)		
Ajustement des volumes respiratoires		
NOAEL corrigé = NOAEL inhalation × facteurs d'ajustement	9,6 mg/kg-j	10,3 mg/kg-j
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>		
Facteurs d'incertitude		
Extrapolation inter espèces	8,25	8,25
Variabilité intra espèces	5,7	5,7
Transposition de durée d'exposition	1	1
Relation dose réponse	1	1
Qualité des données	1	1
Facteur d'incertitude global	47	47
Calcul de la DNEL	= 9,6 / 47 = 0,20 mg/kg-j	= 10,3 / 47 = 0,22 mg/kg-j

Tableau 42 : Synthèse de la construction des DNEL dérivées pour l'effet sur le développement du bore

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	DNEL= 0,2 mg/kg-j	BMDL ₀₅ = 10,3 mg/kg-j Pas de correction de la dose critique	47 = 8,25 (Inter-espèce) × 5,7 (Intra-espèce)	Allen et al., 1996
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	DNEL= 0,2 mg/kg-j	NOAEL = 9,6 mg/kg-j Pas de correction de la dose critique	47 = 8,25 (Inter-espèce) × 5,7 (Intra-espèce)	Price et al., 1996

3.5 DISCUSSION

3.5.1 COMPARAISON NUMERIQUE

La DNEL calculée dans l'étude de cas pour les effets reprotoxiques du bore est comparée aux VTR « académiques » existantes. Parmi les 6 bases consultées proposant des VTR (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), l'US EPA (IRIS), l'ATSDR et l'OMS ont proposé une VTR pour les effets sur le développement du bore. Ces différentes VTR issues de la littérature sont présentées dans le tableau 17.

Tableau 43 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature

Organisme (année)	Effet	Voie et durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Étude utilisée
US EPA/ IRIS (2004)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité (diminution du poids des fœtus)	Orale Chronique	RfD = 0,2 mg/kg-j	BMDL ₀₅ = 10,3 mg/kg-j	66 UF _A = 10,43 3,3*3,16 (Inter-espèce) UF _H = 6,32 2*3,16 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996a - Heindel <i>et al.</i> , 1992
OMS (2003)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité (diminution du poids des fœtus)	Orale Chronique	TDI = 0,16 mg/kg-j	NOAEL = 9,6 mg/kg-j	60 UF _A = 10 (Inter-espèce) UF _H = 6 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996a
Santé Canada (2004)	ND	ND	DJA = 0,0175 mg/kg-j	ND	ND	ND
ATSDR (2007, draft)	Effet sur le développement -	Orale Aigue	MRL = 0,2 mg/kg-j	NOAEL = 22 mg/kg-j	100 UF _A = 10 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996b -
ATSDR (2007, draft)	Effet sur le développement - Fœto-toxicité (diminution du poids des fœtus)	Orale Intermédiaire	MRL = 0,2 mg/kg-j	BMDL ₀₅ = 10,3 mg/kg-j	66 UF _A = 10,43 3,3*3,16 (Inter-espèce) UF _H = 6,32 2*3,16 (Intra-espèce)	Price <i>et al.</i> , 1996a - Heindel <i>et al.</i> , 1992

La DNEL dérivée pour les effets sur le développement/ population générale/ exposition aiguë est égale à 0,20 mg/Kg-j. La DNEL calculée ainsi est équivalente en valeur à la majorité des VTR [ATSDR (0,2 mg/kg-j) et US EPA (0,2 mg/kg-j)]. Un facteur de 1,3 sépare la valeur numérique DNEL à la plus faible des VTR, celle de l'OMS (0,16 mg/kg-j). Elle est également supérieure à la VTR de Santé Canada de 2004 (facteur 11,9). La construction de la VTR de Santé Canada n'étant pas décrite, cette VTR n'est pas retenue pour la discussion.

3.5.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

Cette comparaison méthodologique repose sur l'analyse des étapes de modification de la dose critique en une DNEL ou une VTR pour les effets sur le développement du bore.

Elle devrait ainsi permettre d'identifier les sources potentielles de divergence numérique constatée ci-dessus.

3.5.2.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

La même étude clé (Allen *et al.*, Price *et al.*, 1986) a été retenue pour l'élaboration des VTR académiques et de la DNEL pour les effets sur le développement du bore. En conséquence, les données d'entrée sont identiques.

3.5.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

3.5.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Il est généralement considéré que l'absorption par voie orale est identique chez l'animal et l'homme. La méthodologie d'élaboration des DNEL comporte après la sélection de la dose critique, une étape d'ajustement de cette dose sur la base de différences physiologiques existantes entre l'animal et l'homme. Cette étape est parfois effectuée pour différentes VTR. Dans le cas du bore, en l'absence de données particulières, l'hypothèse est conservée et la dose critique n'est pas corrigée à cette étape pour la DNEL, ni pour les différentes VTR (US EPA, ATSDR et OMS).

3.5.2.2.2 AJUSTEMENT SUR LES CONDITIONS D'EXPOSITION

L'ajustement sur les conditions d'exposition n'est pas approprié pour l'établissement de DNELs pour les effets sur le développement, ni pour l'élaboration de VTR selon certaines méthodologies comme celle de l'US EPA. De plus, dans le cas du bore, les rats ont été exposés par ingestion de nourriture, mode d'exposition continu, les doses critiques n'ont donc pas été ajustées selon les conditions d'exposition.

3.5.2.3 FACTEURS D'INCERTITUDE

3.5.2.3.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

Dans le cadre des effets sur le développement du bore, un facteur d'incertitude ajusté sur les considérations de toxicocinétique a été utilisé par l'US EPA. Les différences entre les espèces pour la distribution du bore dans les fluides extravasculaires et pour l'élimination rénale ont servi de base pour le remplacement par l'US EPA de la valeur par défaut de la composante toxicocinétique (=4) du facteur inter-espèces. Cette approche est décrite dans le document sur le bore de l'US EPA même si elle ne fait pas l'objet d'un document méthodologique propre. D'après la distribution du bore dans l'eau et les os, et en considérant une clairance rénale exclusive (élimination dans la sueur, la salive et les fèces jugée négligeable), un modèle à deux compartiments a été utilisé pour déterminer la concentration d'équilibre du bore dans la circulation (concentration assimilée à celle distribuée au tissu cible). La clairance (Cl_r) chez le rat a été déterminée à 1 mL/min et à 66,1 mL/min chez les femmes enceintes (Cl_h) d'après des données de la littérature. Les poids corporels (PC) utilisés dans les études étaient de 0,303 g pour le rat et 67,6 kg pour les femmes enceintes. L'absorption depuis le tractus gastro-intestinal a été prise à 0,95% pour le rat et 0,92% pour l'homme.

La composante toxicocinétique (AF_{AK}) a été calculée à 3,3 selon la formule :

$$AF_{AK} = \frac{[Cl_r \times F_{ah} \times PC_h]}{[Cl_h \times F_{ar} \times PC_r]}$$

L'ATSDR a appliqué le même facteur que l'US EPA.

Même si la méthodologie de l'OMS préconise comme pour les DNEL ou les VTR de l'US EPA un ajustement sur les données spécifiques d'une substance (IPCS, 1999, WHO, 2005), l'OMS a utilisé le facteur par défaut de 10, considérant que le nombre et la qualité des études de cinétique chez le rat sont insuffisants et, par conséquent, que le remplacement de la valeur par défaut pour la toxicocinétique du facteur inter-espèces est prématuré. En l'absence de données sur la toxicodynamie, le facteur d'incertitude global pour l'incertitude inter-espèces est donc de 10.

Pour la DNEL, les données de clairance rénale, ont été utilisées pour ajuster le facteur AS. Le même calcul que l'US EPA a été réalisé et un facteur AS de 3,3 a été obtenu. Toutefois, les informations du TGD ne sont pas explicites entre la proposition d'ajustement sur les données de toxicocinétiques et l'utilisation du facteur AS qui dépend du métabolisme. La valeur du facteur ainsi utilisée a été de 8,25 : 3,3 pour le facteur AS et 2,5 pour les incertitudes résiduelles.

3.5.2.3.2 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur de variabilité intra-espèces est subdivisé en deux sous-facteurs de 3,16 pour les différences toxicocinétiques et toxicodynamiques selon les instances élaborant les VTR "académiques" et selon le TGD REACH.

Ajustement toxicocinétique

Comme le bore est un composé peu métabolisé et éliminé dans les urines, la cinétique du composé dépend de sa clairance rénale. L'OMS et l'US EPA ont utilisé des données sur le débit de filtration glomérulaire (DFG) disponibles chez la femme enceinte afin d'ajuster la composante toxicocinétique de 3,16. L'ATSDR a repris les facteurs utilisés par US EPA.

- L'OMS a utilisé un facteur de 1,8 pour l'écart sur les débits de filtration glomérulaire. La moyenne du DFG a été estimée à 144 mL/minute d'après une compilation de données non explicitées par l'OMS. Le DFG a été divisé par le DFG à deux écarts types en dessous de la moyenne (80 mL/minute) pour prendre en compte la variabilité chez 95% de la population.
- L'écart sur les débits de filtration glomérulaire retenu par US EPA est 2. Le DFG moyen a été déterminé à 161,5 mL/minute d'après 3 études (Dunlop, 1981 ; Krutzen *et al.*, 1992, Sturgiss *et al.*, 1996) et divisé par le DFG à trois écarts types en dessous de la moyenne (85,8 mL/minute) plutôt que deux pour prendre en compte la variabilité de la population en couvrant notamment les femmes avec un DFG très bas comme mis en évidence dans l'étude Krutzen *et al.* au sein de laquelle les femmes souffraient de pré-éclampsie(1992). La valeur du ratio obtenu (1,93) a été arrondie à 2 pour prendre en compte l'incertitude liée à l'utilisation du DFG pour estimer la clairance rénale.

- Le TGD européen recommande de s'appuyer sur des données spécifiques, selon les lignes directrices de l'OMS (WHO/IPCS, 2005). La composante toxicocinétique du facteur a été ajusté à 1,8 selon les données de clairance rénale chez la femme enceinte, de la même manière que celle utilisée par l'OMS.

Ajustement toxicodynamique

En l'absence de données de toxicodynamie, l'US EPA, l'ATSDR et l'OMS ont utilisé la composante par défaut de 3,16, tout comme pour l'élaboration de la DNEL.

Les facteurs d'incertitude intra-espèces utilisés sont donc les suivants :

- US EPA et ATSDR : $2 \times 3,16 = 6,3$
- OMS : $1,8 \times 3,16 = 5,7$ arrondi à 6
- DNEL : $1,8 \times 3,16 = 5,7$

Les raisonnements ayant conduit à l'ajustement du facteur d'incertitude pour les VTR ou la DNEL sont les mêmes. Toutefois, les données sources n'étant pas exactement les mêmes, la valeur du facteur est quelque peu différente.

3.5.2.3.3 QUALITE DES DONNEES

Aucun facteur n'a été utilisé ni pour l'élaboration des DNEL ni pour l'élaboration des VTR "académiques". De nombreuses études toxicologiques sont disponibles et ont mis en évidence les effets reprotoxiques du bore après exposition par voie orale : différentes espèces ont été étudiées, une étude multigénération est disponible. Les études retenues sont de bonne qualité scientifique.

3.6 CONCLUSION

De nombreuses similitudes existent dans les méthodologies d'élaboration des DNELs et des VTR. Dans le cas des effets sur le développement du bore, les valeurs numériques des VTR et DNEL sont très proches voire identiques (0,16 à 0,2 mg/kg-j). La similitude la plus marquante concerne le raisonnement ayant conduit à l'ajustement du facteur d'incertitude pour la variabilité inter-individuelle, même si la valeur du facteur est quelque peu différente car les données sources ne sont pas exactement les mêmes.

Pourtant, les doses critiques de départ sont différentes (DNEL : NOAEL=9,6 mg/kg-j, et RfD ou DJA : BMD=10,3 mg/kg-j). Le facteur d'incertitude inter-espèces est l'élément de distinction entre VTR et DNEL mais permet de revenir à des valeurs similaires :

- ✓ Les fondements scientifiques pour l'ajustement du facteur d'incertitude inter-espèces entre VTR et DNEL sont identiques mais l'utilisation des données est différente. Pour l'élaboration de la DNEL, le facteur d'incertitude inter-espèces est de 8,5, résultant de l'application du facteur AS ajusté (3,3) et du facteur pour les incertitudes résiduelles de 2,5. Le facteur d'incertitude inter-espèces appliqué par l'US EPA est de 10,4, résultat de la composante toxicocinétique ajustée à 3,3 et de la composante toxicodynamique par défaut de 3,16. Bien que les mêmes données de toxicocinétiques aient été utilisées pour les VTR et la DNEL, le facteur est différent (proche en valeur).

Par ailleurs, cet exemple a utilisé un NOAEL et une BMD pour établir deux DNELs. Les valeurs des doses critiques (NOAEL=9,6 mg/kg-j et BMD=10,3 mg/kg-j) étant très proches, les deux DNELs obtenues sont identiques numériquement après arrondi de la valeur. Il n'est pas possible de préciser, sur la base de cet exemple, s'il est plus pertinent de retenir le NOAEL ou la BMD.

Il convient de souligner qu'en l'absence d'informations spécifiques du bore (cinétique), la construction de la DNEL en appliquant les facteurs par défaut aurait conduit à une DNEL d'une valeur de 0,10 mg/kg-j, soit d'un facteur 2 inférieure à la DNEL calculée. Ceci montre combien la méthodologie d'élaboration des DNEL est précise et permet une prise en compte facile des informations pour l'obtention d'une DNEL plus affinée. Toutefois, il conviendrait d'améliorer la précision du TGD sur :

- ✓ L'utilisation des données de toxicocinétique et toxicodynamie disponibles pour une substance donnée pour ajuster les composantes par défaut : AS et facteur résiduel de 2,5. L'ajustement a été fait ici, sans précision dans le TGD et sur la base de documents d'autres organismes.

Par ailleurs, dans cette étude de cas voie orale, comme l'exposition est continue, il n'y a pas d'ajustement de la dose critique. Or, dans les études de cas par inhalation, cet ajustement de la dose critique a été mis en évidence comme facteur différentiel entre DNEL et VTR ce qui laisse penser que les divergences VTR/DNEL seraient plus marquées pour l'inhalation.

3.7 REFERENCES :

1. ATSDR, 2007. Toxicological Profile for Boron, Draft for public comment, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Research Triangle Institute. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html#b>
2. Dourson M, Maier A, Meek B, et al. 1998. Boron tolerable intake :re-evaluation of toxicokinetics for data-derived uncertainty. Biol Trace Elem Research, 66(1-3) :453-63.
3. ECHA, 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment ; Chapter R.8 : Characterisation of dose [concentration]-response for human health. http://echa.europa.eu/REACH_en.asp
4. IPCS, 1999. Principles for the assessment of risks to human health from exposure to chemicals. Environmental Health Criteria 210. International Programme on Chemical Safety, WHO/UNEP/ILO, World Health Organization, Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc210.htm>
- Murray FJ, 1998. A comparative review of the pharmacokinetics of boric acid in rodents and humans. Biol Trace Elem Res, 66 (1-3) :331-41.
5. Murray FJ, 1995. A human health risk assessment of boron (boric acid and borax) in drinking water. Reg Toxicol Pharmacol 22:221-230.
6. OMS, 2003a. Guidelines value for drinking-water quality, World Health Organization. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/boronsum.pdf
7. OMS, 2003b. Boron in drinking water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/03.04/54 http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/en/index.html#B
8. Pahl, MV; Culver, BD; Strong, PL; et al. 2001. The effect of pregnancy on renal clearance of boron in humans: a study based on normal dietary intake of boron. Toxicol Sci 60(2):252-256.
9. US EPA, 2004. Toxicological review of boron and compounds. 2004, U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum: Washington. Rapport EPA 635/04/052. <http://www.epa.gov/NCEA/iris/toxreviews/0410-tr.pdf>
10. Vaziri, ND; Oveisi, F; Culver, BD; et al. 2001. The effect of pregnancy on renal clearance of boron in rats given boric acid orally. Toxicol Sci 60(2):257-263.
11. WHO/IPCS. 2005. Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability : guidance document for use of data in dose/concentration-response assessment. IPCS Harmonization Project Document No. 2, http://whqlibdoc.who.int/publications/2005/9241546786_eng.pdf

4. ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS CANCEROGENES DU CHLOROFORME (67-66-3)

4.1 INTRODUCTION

Le chloroforme est un liquide volatil peu soluble dans l'eau. En tant que sous-produit de la chloration de l'eau potable, il est présent dans de nombreux réseaux publics de distribution d'eau potable. Comme il est instable, l'homme peut être exposé non seulement par ingestion d'eau potable, mais aussi par l'inhalation de vapeurs de chloroforme libérées dans l'air intérieur. Le chloroforme est également libéré dans l'environnement suite à son utilisation industrielle. Ainsi, la population générale est exposée au chloroforme par l'ingestion d'eau de boisson et d'aliments, l'inhalation d'air contaminé, et par contact cutané avec de l'eau (ATSDR, 1998 ; US EPA, 2001).

Les différentes étapes de la construction de DNEL pour les effets cancérigènes du chloroforme selon la méthodologie décrite dans le TGD (mai 2008) sont présentés ci-dessous.

La synthèse sur la toxicité du chloroforme présentée ci-dessous s'appuie sur les données rapportées dans les monographies de l'OMS (2004), de l'US EPA (2001), de l'ATSDR (1998) ainsi que sur l'analyse bibliographique conduite par l'INERIS en 2006 dans le cadre de l'analyse et la construction de VTR pour le chloroforme (Doornaert, Diack et Bois, 2007). Une recherche bibliographique a également été menée dans les bases de données toxnet et pubmed afin d'identifier d'éventuelles données plus récentes.

4.2 TOXICITE DU CHLOROFORME

Les données sur la toxicité du chloroforme chez l'homme sont extrêmement limitées mais indiquent que le chloroforme entraîne les mêmes symptômes chez l'homme que chez les animaux de laboratoire (OMS, 2004).

Après administration répétée court-terme par voie orale, des lésions nasales chez le rat et des modifications histologiques du foie et des reins chez la souris ont été observées. Une exposition par inhalation allant jusqu'à 7 jours a entraîné une réponse proliférative de l'épithélium nasal chez le rat et la souris.

Après une administration répétée de 90 jours par voie orale (gavage ou eau de boisson), des effets sur le foie (augmentation de poids et de l'activité enzymatique microsomique, accumulation de lipides et vacuolisation) ont été observés chez la souris. Des effets sur le foie ont également été observés chez les chiens traités par voie orale pendant 7,5 ans, notamment une augmentation de l'activité enzymatique et le développement de kystes adipeux. Chez des rats exposés par inhalation pendant 4-6 mois, des lésions hépatiques (nécrose) et une augmentation du poids des reins ont été observées. Une prolifération cellulaire au niveau de l'épithélium nasal a été rapportée chez des rats et des souris exposés par inhalation pendant 13 semaines.

4.3 EFFET CANCEROGENES ET GENOTOXICITE

4.3.1 EFFETS CANCEROGENES

L'analyse bibliographique menée dans les bases de données toxnet et pubmed n'a pas identifié d'étude toxicologique permettant de compléter ou remettre en cause les

données déjà disponibles. Aussi, l'analyse rapportée ci-dessous est celle menée par l'INERIS en 2006, s'appuyant entre autres sur les monographies de l'US EPA (2001) et de l'ATSDR (1998), les études citées n'ont pas été réétudiées.

Chez l'homme, par voie orale, quelques études montrent une faible association entre l'exposition au chloroforme dans l'eau de boisson et certains types de cancer, tels que les cancers de la vessie, du colon, du rectum et du pancréas. Toutefois, les résultats de ces études ne peuvent pas être attribués spécifiquement au chloroforme, du fait d'une exposition multiple à d'autres substances qui sont les sous-produits de la désinfection de l'eau, et notamment, des acides haloacétiques, des aldéhydes et des cétones (ATSDR, 1998 ; US EPA, 2001). Certaines de ces substances peuvent induire des effets mutagènes et des effets cancérogènes et la proportion de chacune de ces substances dans l'eau de boisson varie en fonction des eaux consommées. L'analyse de ces études conduit l'US EPA à conclure que les données épidémiologiques disponibles sont insuffisantes pour établir une relation de cause à effet entre l'exposition au chloroforme et l'augmentation du risque de cancers (US EPA, 1998).

Par inhalation, l'IARC, en 1999, cite deux études de cas menées dans le milieu professionnel où des travailleurs ont été exposés à du chloroforme. Toutefois, les références de ces études ne sont pas précisées et n'ont pas été retrouvées dans les autres monographies (ATSDR, 1997 ; US EPA, 2001). D'après l'IARC, ces études présentent toutes les deux des limites statistiques. La première étude a mis en évidence une relation négative entre l'exposition au chloroforme et les cancers du sein. La seconde étude a analysé différents types de cancers mais pas le cancer du sein et a montré une association entre l'exposition au chloroforme et les cancers de la prostate et des poumons, mais aucune association avec les cancers de la vessie (IARC, 1999).

Chez l'animal, les études expérimentales montrent que le chloroforme est cancérogène à fortes doses après une exposition sub-chronique et chronique par voie orale chez différentes espèces animales. Des augmentations significatives des tumeurs du foie chez la souris mâle et femelle ont été observées ainsi qu'une augmentation de l'incidence des tumeurs des reins chez les rats mâles et chez les souris. Le développement de ces tumeurs est dépendant de l'espèce, de la souche et du sexe de l'animal testé. De plus, ces tumeurs apparaissent uniquement à des doses supérieures à celles induisant une cytotoxicité et une régénération cellulaire.

Par inhalation, l'étude de Nagano *et al.*, 1998, rapporte l'exposition de rats F344 et de souris BDF1 à des vapeurs de chloroforme 6 h/j, 5j/7 pendant 104 semaines. Les rats mâles et femelles ont été exposés à 0, 10, 30 et 90 ppm de chloroforme et les souris ont été exposées à 0, 5, 30 et 90 ppm. Les rats ainsi que les souris exposés, quelle que soit la concentration de chloroforme, présentent une nécrose et une métaplasie de l'épithélium olfactif ainsi qu'une hyperplasie des cellules en gobelet de l'épithélium respiratoire. Une ossification de la cornée et du septum nasal des rats et des souris aux plus faibles concentrations d'exposition a été observée. Une augmentation significative de l'incidence des adénomes et des carcinomes rénaux a été constatée chez la souris mâle à 30 ppm (7/50) et à 90 ppm (12/48), comparé au groupe contrôle (0/50). L'incidence de l'ensemble des carcinomes des cellules rénales est augmentée de façon statistiquement significative chez les souris mâles exposées à 90 ppm (11/48), comparé aux animaux contrôles (0/50). Aucun changement statistiquement significatif de l'incidence des tumeurs chez la souris femelle et chez les rats mâles ou femelles n'a été observé quelle que soit la concentration de chloroforme testée.

Templin *et al.*, 1998, ont reproduit l'étude de Nagano *et al.*, 1998, chez les souris en incluant une période d'acclimatation. Ces auteurs ont constaté une cytotoxicité et une

hyperplasie des reins chez les souris mâles exposées à 30 et à 90 ppm de chloroforme pendant 90 jours. Aucune lésion et aucune hyperplasie n'a été observée chez la souris femelle. Ces observations sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle la réponse néoplasique induite par le chloroforme est due à une cytotoxicité et à une hyperplasie régénérative.

4.3.2 CLASSIFICATION

L'Union Européenne a classé le chloroforme en Catégorie 3 (substance préoccupante pour l'homme en raison d'effets cancérigènes possibles) (1993).

L'IARC a classé le chloroforme dans le groupe 2B (la substance pourrait être cancérigène pour l'homme) (1999). Ce classement a été réalisé à partir de données inadéquates chez l'homme et de preuves suffisantes chez l'animal.

L'US EPA (1986) a classé le chloroforme dans le groupe B2 (Substance probablement cancérigène pour l'homme). Cette classification est basée sur des preuves suffisantes chez l'animal.

En 2001, l'US EPA a réétudié le profil toxicologique du chloroforme et considère que le chloroforme pourrait être cancérigène chez l'homme pour toutes les voies d'exposition et pour des doses supérieures à celles conduisant à une cytotoxicité et à une hyperplasie régénérative dans les tissus les plus sensibles. Il ne serait pas cancérigène chez l'homme quelles que soit les voies d'exposition pour des doses inférieures à celles induisant une cytotoxicité et une hyperplasie régénérative (US EPA, 2001).

4.3.3 GENOTOXICITE ET MUTAGENICITE

Sur la base des études *in-vivo* et *in-vitro*, il apparaît que la majorité des études concernant la génotoxicité du chloroforme sont négatives. Les quelques études positives présentent des limites, telles que l'utilisation de doses très fortes entraînant une cytotoxicité, et la présence de facteurs confondants. Le chloroforme n'apparaît donc pas comme étant génotoxique ou apparaîtrait génotoxique à de fortes doses ou concentrations, aux quelles le chloroforme induit également une cytotoxicité. Cette conclusion est supportée par l'OMS : "le poids de la preuve laisse entendre que le chloroforme ne possède pas de potentiel génotoxique direct" (OMS, 2004) et par l'US EPA : "le poids de la preuve indique que, même si un rôle de mutagénicité ne peut être exclu avec certitude, le chloroforme n'est pas un agent mutagène puissant et que ni le chloroforme, ni ses métabolites ne se lient facilement à l'ADN" (US EPA, 2001).

Le chloroforme a été examiné par l'Union européenne, mais aucun classement pour son caractère génotoxique n'a été proposé (JOCE, 1993).

4.3.4 MECANISME D'ACTION

La toxicité de chloroforme sur le foie, les reins et la muqueuse nasale est liée à la capacité des tissus à métaboliser le chloroforme (US EPA, 2001). En effet, la toxicité du chloroforme est observée dans les tissus qui ont la plus grande capacité à métaboliser le chloroforme (foie, rein), et elle peut être augmentée ou diminuée par des agents qui augmentent ou diminuent l'activité des enzymes métaboliques, respectivement. Par ailleurs, il existe de nettes différences de sensibilité entre les sexes, les souches et les

espèces et ces différences de toxicité sont en corrélation avec des différences de capacité métabolique. Par exemple, la toxicité rénale est généralement plus sévère chez les mâles que chez les femelles, apparemment parce que le cytochrome P450, principalement responsable du métabolisme de chloroforme (CYP2E1), est induit par la testostérone (US EPA, 2001).

Le mécanisme par lequel le chloroforme agit sur le métabolisme cellulaire n'est pas certain, mais il est probablement dû principalement à la formation de phosgène à la suite du métabolisme oxydatif, le phosgène étant très réactif et pouvant se lier aux macromolécules des tissus. Ce mode de toxicité est soutenu par le fait que le glutathion protège contre les effets toxiques du chloroforme et que la toxicité du chloroforme se manifeste seulement lorsque les réserves de glutathion ont été épuisées. Le métabolisme oxydatif du chloroforme conduisant également à la production d'acide chlorhydrique, ce dernier peut aussi contribuer à l'effet toxique (US EPA, 2001).

Les différentes études disponibles montrent que le chloroforme n'est pas un cancérigène exerçant une action mutagène directe par réaction sur l'ADN (US EPA, 2001). En effet, les tumeurs du foie et des reins induits par le chloroforme seraient liées à une cytotoxicité prolongée et à la persistance de la prolifération cellulaire réparatrice. La prolongation de la prolifération cellulaire conduirait à une mutation spontanée des cellules et par conséquent au développement de cancer.

Ainsi, les données concernant le mécanisme d'action cancérigène du chloroforme laissent penser à l'existence d'un seuil pour les effets cancérigènes induits par cette substance. Ces données sont en accord avec les résultats des tests génotoxiques.

4.3.5 COHERENCE DES DONNEES ANIMALES ET HUMAINES

Les données sur la toxicité du chloroforme chez l'homme sont extrêmement limitées mais indiquent que le chloroforme entraîne les mêmes symptômes chez l'homme que chez les animaux de laboratoire (OMS, 2004). Les effets cancérigènes chez l'animal sont bien documentés. Le foie et les reins sont les organes cibles de toxicité. Sur la base de ces informations, les données expérimentales relatives aux effets cancérigènes sur le rein sont utilisées et transposées à l'homme.

4.4 CONSTRUCTION DES DNEL POUR LES EFFETS CANCEROGENES DU CHLOROFORME

4.4.1 ETAPE A: SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES POUR LES EFFETS CANCEROGENES DU CHLOROFORME

L'analyse des données disponibles n'a pas identifié de nouvelle étude qui aurait pu être pris en compte pour l'élaboration d'une DNEL. Parmi la littérature, et dans le cadre de l'analyse comparative VTR académiques et DNEL, l'élaboration de la DNEL s'est appuyée sur la même étude clé que celle retenue par l'INERIS pour l'élaboration de la VTR en 2006 (Doornaert, Diack et Bois, 2007).

Cette analyse des études disponibles conduite par l'INERIS en 2006 menée à partir des mêmes critères de sélection des études que ceux définis dans le TGD, a permis d'identifier l'étude expérimentale de Nagano *et al.* (1998) comme pertinente pour l'élaboration de relations dose-effet pour les effets cancérigènes induits par le chloroforme.

L'étude de Nagano *et al.*, 1998 a pour but d'examiner le possible effet cancérigène de six hydrocarbures halogénés (bromure de méthylène, tétrachlorure de carbone, chloroforme, tétrachloroéthylène, 1,2-dichloroéthane et p-dichlorobenzène) chez les rats F344 et chez les souris BDF1. Le détail de cette étude pour le chloroforme et l'évaluation de sa qualité scientifique sont présentés ci-dessous.

Nagano *et al.*, 1998

- ✓ **Substances testées et % de pureté** : bromure de méthylène et p-dichlorobenzène (> 99,9 % de pureté). Tétrachlorure de carbone, chloroforme, tétrachloroéthylène et 1,2-dichloroéthane (> 99 % de pureté).
- ✓ **Espèces étudiées** : rats mâles et femelles F344 et souris mâles et femelles BDF1.
- ✓ **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 50 par lot et par sexe pour les deux espèces.
- ✓ **Voie d'exposition** : inhalation, exposition corps entier.
- ✓ **Temps et fréquence d'exposition** : 6 h/j, 5/7 j pendant 104 semaines.
- ✓ **Concentrations d'exposition** : 5, 25, 75, 125 ppm.
- ✓ **Groupe témoin** : 50 pour les deux espèces (exposition à de l'air, dans les chambres d'exposition).
- ✓ **Informations supplémentaires sur le protocole** : des études préliminaires ont été réalisées chez les 2 espèces sur 2 et 13 semaines afin de déterminer la concentration tolérable maximale qui correspond à la concentration la plus élevée de l'étude. Les animaux ont été observés tous les jours en ce qui concerne les signes cliniques et une fois par jour pour la mortalité. Ils ont été pesés toutes les semaines pendant les 13 premières semaines et ensuite toutes les 4 semaines. A la semaine 105, tous les animaux vivants ont été sacrifiés et une autopsie complète a été réalisée sur chaque animal. Une autopsie a été également pratiquée sur les animaux morts au cours de l'exposition ou sacrifiés car ils étaient moribonds.
- ✓ **Effet(s) observé(s) et résultats** : seuls les résultats obtenus pour le chloroforme sont indiqués dans le tableau 18 suivant.

Tableau 44: Incidence des tumeurs chez les souris et rats exposés 104 semaines au chloroforme par inhalation ; résultats de l'étude de Nagano et al., 1998

Espèces et sexes	Type de tumeurs et localisation	* Résultats et concentration en ppm			
		0 ppm	5 ppm	25 ppm	125 ppm
Rats mâles		Aucune augmentation de l'incidence des tumeurs			
		Aucune augmentation de l'incidence des tumeurs			
Rats femelles		Aucune augmentation de l'incidence des tumeurs			
Souris mâles	Adénomes des cellules rénales	0 ppm	5 ppm	30 ppm	90 ppm
		0/50	0/50	3/50	1/48
	Carcinomes des cellules rénales	0/50	1/50	4/50	11/48
Souris femelles	Carcinomes hépatocellulaires	1/50	1/50	0/50	3/50

* Résultats exprimés en nombre d'animaux ayant des tumeurs sur le nombre d'animaux totaux

- ✓ **Qualité de l'étude (BPL, Klimisch, autre)** : Cotation de Klimisch retenue : 2 e. Par ailleurs, des tests statistiques ont été réalisés par les auteurs mais aucune étude de la relation dose-réponse n'a été faite. La conclusion porte sur les différents types de tumeurs observés chez les rats et les souris sans préciser la significativité de l'augmentation de chaque type de tumeurs en fonction de la concentration testée.
- ✓ Le tableau 19 présente l'étude de Nagano *et al.* ayant permis de proposer un NOAEC pour les effets cancérogènes du chloroforme.

Tableau 45 : Dose critique définie pour les effets cancérogènes du chloroforme et retenue pour l'élaboration des VTR/DNEL

Étude retenue	NOAEC établie	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Nagano <i>et al.</i> , 1998	NOAEC : 5 ppm (24,8 mg/m ³)	Inhalation 6h/j pendant 104 semaines	Effet cancérogène - : augmentation statistiquement significative de l'incidence des carcinomes rénaux.	Souris mâles

4.4.2 ETAPE B: MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACH, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

4.4.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Pour l'inhalation, l'absorption de la substance est exprimée par le coefficient de partage sang - air. Les coefficients de partage entre sang et air du chloroforme ont été déterminés par Gargas *et al.* en 1989 chez l'homme (valeur : 6,85) et chez la souris (valeur : 21,3), et ils ont donc été utilisés pour l'élaboration de la DNEL. Le NOAEC de 24,8 mg/m³ a été corrigé sur la base du rapport des coefficients (21,3 chez la souris/6,85 chez l'homme) soit d'un facteur 3,1.

4.4.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

4.4.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

L'étude retenue fournit une NOAEC (24,8 mg/m³) issue d'une étude par inhalation chez la souris exposée 6 h/j, 5j/7. La NOAEC doit être ajustée pour une exposition de 24 h/24 et 7 j/7 pour la population générale et de 8 h/24 pour les travailleurs.

Cette dose critique doit être corrigée par un facteur de 0,18 (= 6/24*5/7) pour la population générale exposée via l'environnement. Pour des travailleurs, la dose critique doit être corrigée par un facteur de 0,75 (= 6/8).

4.4.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

D'après le TGD, les taux respiratoires dépendant de la demande calorique, un ajustement sur les volumes respiratoires correspond à un ajustement sur le taux métabolique, en d'autres termes à l'ajustement allométrique. Toutefois, le TGD ne donne pas le volume respiratoire de la souris donc la dose critique n'est pas ajustée sur les volumes respiratoires. L'ajustement allométrique sera pris en compte lors de l'application du facteur d'incertitude inter-espèces (facteur AS).

Les différences de volumes respiratoires liées à l'activité physique des travailleurs ne sont pas prises en compte par l'ajustement allométrique. Ainsi, un ajustement de la dose critique est nécessaire pour les travailleurs prenant en compte le volume respiratoire en activité (10 m³) et celui au repos (6,7 m³) : un facteur égal à 0,67 (= 6,7m³/10m³) est appliqué à la dose critique.

Calcul de la dose critique corrigée :

- Pour la population générale exposée par inhalation pendant 24h/j

$$\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = \text{NOAEC}_{\text{inhalation}} \times 3,1 \times 6/24\text{h/j} \times 5\text{j}/7$$

$$\text{Soit NOAEC}_{\text{corrigé}} = 24,8 \times 3,1 \times 6/24 \times 5/7 = 13,7 \text{ mg/m}^3$$

- Pour des travailleurs exposés pendant 8h/j

$$\text{NOAEC}_{\text{corrigé}} = \text{NOAEC}_{\text{inhalation}} \times 3,1 \times \frac{6\text{h/j}}{8\text{h/j}} \times \frac{6,7 \text{ m}^3(8\text{h})}{10 \text{ m}^3 (8\text{h})}$$

Soit $NOAEC_{\text{corrigé}} = 24,8 \times 3,1 \times 6/8 \times 6,7/10 = 38,6 \text{ mg/m}^3$

4.4.3 ETAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

4.4.3.1 EXTRAPOLATION INTER ESPECES

D'après les recommandations du TGD, comme la dose critique corrigée a déjà été ajustée sur le principe de l'ajustement allométrique (la concentration inhalée a été préalablement ajustée par rapport aux volumes respiratoires), le facteur d'ajustement allométrique (AS) ne s'applique pas. Cependant, comme il s'agit d'une étude chez la souris et que le volume respiratoire de la souris n'est pas indiqué dans le TGD, l'ajustement allométrique n'a pas été effectué à l'étape b le facteur AS est appliqué.

En conséquence, les facteurs d'incertitude liés aux variations inter espèces appliqués par défaut sont les suivants :

- ◆ Facteur AS pour l'espèce testée (la souris) est égal à 7
- ◆ Un facteur pour les différences résiduelles égal à 2,5

Soit un facteur d'incertitude lié aux variations inter-espèces d'une valeur de 17,5 ($= 7 \times 2,5$)

4.4.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

Le facteur classiquement retenu pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu pour l'élaboration de la DNEL pour la population générale. Pour les travailleurs, conformément aux recommandations du TGD, le facteur 5 a été utilisé.

4.4.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La durée d'exposition dans l'étude de Nagano *et al.* (1998) est de 104 semaines, durée d'exposition chronique, conformément aux lignes directrices OCDE (> 1 an) et conformément aux considérations scientifiques (>10% du temps de vie de la souris). La DNEL dérivée de la NOAEC issue de cette étude sera donc de type chronique sans qu'il soit nécessaire d'appliquer un facteur d'incertitude pour l'inadéquation de la durée d'exposition de l'étude expérimentale utilisée (AF = 1).

4.4.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Un NOAEC a été mis en évidence dans l'étude retenue. De ce fait, ce facteur d'incertitude ne s'applique pas.

4.4.3.5 QUALITE DES DONNEES

La toxicité du chloroforme a été largement étudiée et les cibles de toxicité du chloroforme chez l'animal sont clairement identifiées. Les études de toxicité répétée par inhalation ont mis en évidence des lésions histologiques du rein et du foie et ce aux mêmes doses que l'étude de Nagano *et al.* (1998) ayant mis en évidence des tumeurs. L'étude de Nagano *et al.* (1998) a été retenue et bien que n'établissant pas de relation

dose-réponse ferme (aucune étude de la relation dose-réponse n'a été faite par les auteurs, seulement l'incidence des tumeurs est rapportée), elle est bien menée et jugée de qualité acceptable. Aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

4.4.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global à appliquer à la dose critique corrigée est égal à

- pour la population générale : $17,5 \times 10 = 175$
- pour des travailleurs : $17,5 \times 5 = 87,5$

Le calcul de la DNEL pour les effets cancérogènes du chloroforme est présenté dans les deux tableaux suivants.

**Tableau 46 : Calcul de la DNEL pour l'effet cancérogène du chloroforme
à partir de l'étude de Nagano et al., 1998**

	Population générale	Travailleurs
<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>		
Dose critique retenue	NOAEC = 24,8 mg/m ³	NOAEC = 24,8 mg/m ³
<i>Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustment</i>		
Différences d'absorption animal / homme	3	3
Ajustement de la voie d'exposition		
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)	6/24 x 5/7	6/8
Ajustement des volumes respiratoires		6,7/10
NOAEC corrigé = NOAEC inhalation × facteurs d'ajustement	13,7 mg/m ³	38,6 mg/m ³
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>		
Facteurs d'incertitude		
Extrapolation inter espèces	17,5	17,5
Variabilité intra espèces	10	5
Transposition de durée d'exposition	1	1
Relation dose réponse	1	1
Qualité des données	1	1
Facteur d'incertitude global	25	12,5
Calcul de la DNEL	= 13,7 / 175 = 0,078 mg/m ³	= 38,6 / 87,5 = 0,44 mg/m ³

**Tableau 47 : Synthèse de la construction de la DNEL dérivée
pour l'effet cancérogène du chloroforme**

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet cancérogène - carcinomes rénaux	Inhalation Exposition Chronique	Population générale : DNEL= 0,08 mg/m ³ Travailleurs : DNEL= 0,4 mg/m ³	NOAEC = 24,8 mg/m ³ (5 ppm) Population générale : NOAEC corrigée = 13,7 mg/m ³ Travailleurs: NOAEC corrigée = 38,6 mg/m ³	Population générale : 25 = 17,5 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) Travailleurs : 12,5 = 17,5 (Inter-espèces) × 5 (Intra-espèce)	Nagano et al., 1998

4.5 DISCUSSION

4.5.1 COMPARAISON NUMERIQUE

Les DNEL calculées dans l'étude de cas pour les effets cancérigènes du chloroforme sont comparées aux VTR "académiques" existantes. Aucune VTR à seuil pour les effets cancérigènes du chloroforme n'a été établie dans les 6 bases consultées (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada). La seule VTR à seuil disponible est celle issue d'une expertise de l'INERIS (2006). La comparaison méthodologique s'est donc appuyée sur cette valeur.

Tableau 48 : VTR INERIS (2006) disponible pour les effets cancérigènes du chloroforme

Effet	Voie - durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
Effet cancérigène - Carcinome rénal	Inhalation - chambre d'inhalation - Chronique 104 semaines	$VTR = 6,7 \cdot 10^{-2} \text{ mg/m}^3$	NOAEC = 5 ppm (24,8 mg/m ³) NOAEC _{ADJ} = 0,89 ppm (4,41 mg/m ³) (NOAEC x 6h/24 x 5j/7)	70 UF _A = 7 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce)	Nagano <i>et al.</i> , 1998

A noter toutefois que l'ATSDR, l'OMS, l'OEHHA, et le RIVM proposent des VTR à seuil pour les effets systémiques non cancérigènes (présentées dans le tableau 19). Les valeurs, comprises entre 0,1 et 0,3 mg/m³ en fonction des agences ne sont que légèrement supérieures à la DNEL effets cancérigènes, ce qui est en accord avec le mécanisme d'action cancérigène à seuil du chloroforme (voir § 3.3.4).

Tableau 49 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature pour les effets à seuil non cancérogènes

Organisme (année)	Espèce	Effet	Voie et durée d'exposition	Durée d'exposition	VTR	Dose critique	UF	Etude utilisée
RIVM (2001)	Rat	Effet non cancérogène, pas de précision	Inhalation 6 mois	Sub-chronique	TCA = 10^{-4} mg/m ³	NOAEC=110 mg/m ³ NOAEC _{ajustée} = 11 mg/m ³ (facteur 10 appliqué pour tenir compte de la continuité de l'exposition 4H/j, 5j/7)	100 UF _A = 10 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce) après ajustement [N.B : facteur 1000 dit par RIVM car ajustement par facteur 10)	Torkelson <i>et al.</i> , 1976
OEHHA (2005)	Rat	Effet hépatique et rénal	Inhalation, exposition corps entier 7H/j 6 mois	Sub-chronique	REL = 0,3 mg/m ³	LOAEC = 25 ppm (122 mg/m ³) LOAEC _{adj} = 5,3 ppm (*7h/24*5j/7) LOAEC _{hec} = 15,9 ppm (facteur 3)	300 UF _A = 3 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce) UF _L = 10 (LOAEC)	Torkelson <i>et al.</i> , 1976
OMS (2004)	Chien	Effet hépatique : formation kystes	Voie orale, 7,5 ans	Chronique	TCA = 0,14 mg/m ³	NOAEL = 15 mg/kg-j NOAEC _{hec} = 3,4 mg/m ³ (après modélisation pbpk)	25 UF _A = 2,5 (Inter-espèce) UF _H = 10 (Intra-espèce)	Heywood <i>et al.</i> , 1979
ATSDR (1998)	Homme	Effet hépatique : hépatomégalie, stéatose, hépatite	Inhalation, 1-4 ans	Sub-chronique	MRL = 0,02 ppm (0,1 mg/m ³)	LOAEC = 2 ppm (9,92 mg/m ³)	100 UF _H = 10 (Intra-espèce) UF _L = 10 (LOAEC)	Boomski <i>et al.</i> , 1967

NOAEC_{ADJ} : NOAEC ajusté en fonction du temps / NOAEC_{HEC} : Concentration équivalente humaine (NOAEC_{HEC} = NOAEC_{ADJ} x λ_{animal} / λ_{homme} - λ étant le coefficient de partage sang / air)

La DNEL dérivée pour les effets cancérigènes pour la population générale et une exposition chronique est égale à 0,08 mg/m³. La DNEL calculée ainsi est inférieure en valeur à la valeur de l'INERIS (0,063 mg/m³) d'un facteur 1,25.

4.5.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

Cette comparaison méthodologique repose sur l'analyse des étapes de modification de la dose critique en une DNEL ou une VTR pour les effets cancérigènes du chloroforme. Elle devrait ainsi permettre d'identifier les sources potentielles de divergence numérique constatée ci-dessus.

4.5.2.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

La même étude clé (Nagano *et al.*, 1998) a été retenue pour l'élaboration de la VTR académique et de la DNEL pour les effets cancérigènes du chloroforme. En conséquence, les données d'entrée utilisées sont identiques.

4.5.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

4.5.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

La méthodologie d'élaboration des DNEL comporte après la sélection de la dose critique, une étape d'ajustement de cette dose sur la base de différences physiologiques existant entre l'animal et l'homme. Les coefficients de partage entre sang et air du chloroforme ont été déterminés par Gargas *et al.* en 1989 et ont été utilisés pour l'élaboration de la DNEL. Le NOAEC de 24,8 mg/m³ a été corrigé sur la base du rapport des coefficients (21,3 chez la souris /6,85 chez l'homme) soit d'un facteur 3,1.

D'une manière générale, l'ajustement selon les différences d'absorption animal/homme n'est pas effectué par toutes les instances élaborant des VTR ni, au sein d'une même agence, pour toutes les substances. La construction de la VTR de l'INERIS n'a pas utilisé les coefficients de partage sang-air du chloroforme pour l'ajustement de la NOAEC.

4.5.2.2.2 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

La méthodologie européenne prévoit également un ajustement des données toxicologiques en fonction du temps, par l'application de la loi de Haber simplifiée (Haber, 1924), pour l'établissement de DNEL effet chronique. Celle-ci repose sur l'hypothèse d'une relation linéaire dose-effet. Cet ajustement a été appliqué pour et a engendré une NOAEC corrigée d'un facteur 0,18 (6/24 x 5/7). Le même ajustement a été employé pour l'élaboration de la VTR de l'INERIS.

4.5.2.3 FACTEURS D'INCERTITUDE

4.5.2.3.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

Un facteur d'incertitude inter-espèces (UF_A) égal à 7 a été appliqué par l'INERIS, conformément aux recommandations du TGD en application de la directive 67/548/CE

(2006). Ce facteur repose sur des considérations de toxicocinétique et de toxicodynamie lors de l'extrapolation de données chez la souris. Il correspond au facteur AS du TGD de REACH. Dans l'établissement des DNEL par inhalation, l'incertitude liée à l'extrapolation inter-espèces est prise en considération par l'application du facteur de 2,5 pour les incertitudes liées à la toxicodynamie (et les différences de cinétique non prises en compte par l'ajustement allométrique). L'ajustement de la dose critique sur les différences d'absorption (coefficients de partage air-sang) effectué à l'étape b consiste en un ajustement sur l'absorption et la biodisponibilité mais pas sur la cinétique et n'influe donc pas sur la valeur du facteur d'incertitude inter-espèces. En outre, dans le cas du chloroforme, le facteur d'ajustement allométrique (AS=7 chez la souris) a par ailleurs été appliqué car la dose critique n'a pas été ajustée sur les volumes respiratoires à l'étape b, le TGD ne donnant pas l'information. Le facteur d'incertitude inter-espèces utilisé est donc de 17,5 (7 x 2,5). Cet exemple met donc en avant la différence entre les facteurs d'incertitude inter-espèces. Selon la méthodologie européenne précédente, aucun facteur supplémentaire pour les incertitudes résiduelles n'était appliqué.

4.5.2.3.2 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur classiquement retenu pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu à la fois pour l'élaboration de la VTR " académique " et de la DNEL.

4.5.2.3.3 TRANSPOSITION DE DUREE SUBCHRONIQUE A CHRONIQUE

La durée de l'exposition dans l'étude clé retenue de Nagano *et al.* (1998) est de 104 semaines, soit chronique. De ce fait, aucun facteur d'incertitude pour l'inadéquation de la durée d'exposition de l'étude expérimentale utilisée (AF = 1) n'a été appliqué, ni pour l'élaboration de la DNEL, ni pour l'élaboration de la VTR par l'INERIS.

4.5.2.3.4 QUALITE DES DONNEES

Aucun facteur n'a été utilisé pour l'établissement de la DNEL ni pour l'élaboration de la VTR INERIS. Le profil toxicologique du chloroforme est connu et l'étude retenue est de bonne qualité.

4.6 CONCLUSION

De nombreuses similitudes existent dans les méthodologies d'élaboration des DNELs et des VTR. Dans le cas des effets cancérogènes du chloroforme, la divergence numérique constatée entre la DNEL (0,08 mg/m³) et la VTR INERIS (0,067 mg/m³) réside dans l'ajustement de la dose critique et l'application du facteur d'incertitude inter-espèces qui en décline, les autres éléments de la construction de la VTR comme de la DNEL étant similaires :

- ✓ Pour l'élaboration de la DNEL, les coefficients de partage sang-air animal/homme ont été utilisés et ont permis l'ajustement de la dose critique d'un facteur 3. Ce facteur 3 n'a pas été employé pour l'élaboration de la VTR européenne.
- ✓ Pour l'élaboration de la DNEL, le facteur d'incertitude inter-espèces utilisé est de 2,5 pour les incertitudes résiduelles et le facteur d'ajustement allométrique, de 7 (pour

la souris). Le facteur d'incertitude pour la construction de la VTR INERIS est la valeur de 7 par défaut pour prendre en compte les incertitudes toxicocinétiques et toxicodynamiques. La différence est d'un facteur 1,25.

Dans les études de cas précédentes, l'impact numérique lié au facteur inter-espèces pouvait conduire à des DNEL plus ou moins conservatrice que les VTR, selon les cas (pour des données chez le lapin, la valeur est inférieure à 10 mais chez la souris, la valeur est supérieure à 10). Ici, le facteur d'incertitudes inter-espèces pour les DNEL (AS et facteur résiduel) conduit à des DNEL plus sécuritaires que les VTR établies selon la méthodologie européenne 2006.

Si les coefficients de partage n'avaient pas été utilisés, la DNEL (0,025 mg/m³) serait inférieure d'un facteur 2,5 à la VTR INERIS (en raison de la composante pour les incertitudes résiduelles de 2,5) et non d'un facteur 1,25. Cet exemple montre que la multiplication des différences méthodologiques n'a pas nécessairement un impact plus conséquent sur la différence numérique entre VTR/DNEL. Ici, l'impact du facteur inter-espèces est atténué par l'utilisation des coefficients de partage air-sang.

Par ailleurs, cet exemple souligne que l'utilisation de toute information disponible sur le profil toxicocinétique et toxicologique d'une substance permet l'élaboration d'une DNEL plus affinée, celle-ci alors pouvant être moins conservatrice pour la santé.

4.7 REFERENCES

1. ATSDR, 1997. Toxicological Profile for Chloroform. Agency for Toxic substances and Disease Registry: Research Triangle Institute.
2. Baars A.J., Theelen R.M.C., Janssen P.J.C.M., et al., 2001. Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels. RIVM, Rijksinstituut voor volksgezondheid en milieu.
3. Bunce NJ, Remillard RBJ. 2003. Haber's rule: the search for quantitative relationships in toxicology. Human and Ecological Risk Assessment, 9(4):973-985.
4. Doornaert, Diack et Bois, INERIS, 2007. Rapport d'étude N° DRC-07-10107-12412A.
5. ECB, 2006. Technical Guidance Document on Risk Assessment. Human Health Risk Characterisation. Revised Chapter, Final Draft. Ispra.
6. ECHA 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment ; Chapter R.8 : Characterisation of dose [concentration]-response for human health. http://echa.europa.eu/REACH_en.asp
7. Gargas ML, Burgess RJ, Voisard DE, et al. 1989. Partition coefficients of lowmolecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. Toxicol. Appl. Pharmacol. 98(1):87-99
8. IARC, 1999. Chloroform. International Agency for Research on Cancer. In Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. IARC Monographs on the Evaluation on Carcinogenic Risks to Humans. Vol. 71 (part 1). Klimisch H.-J., Andreae M., and Tillmann U. A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 1997; 25: 1-5. 1999, Lyon, France: World Health Organization - International Agency for Research on Cancer
9. OEHHA, 2003. REL Chloroforme. Office of Environmental Health Hazard Assessment.
10. OEHHA, 2005. ERU_i Chloroforme. Office of Environmental Health Hazard Assessment.
11. OMS, 2004. International Programme on chemical Safety. Chloroform. Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) n° 58, World Health Organization.
12. US EPA, 2001. Toxicological review of chloroforme. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum: Washington.
13. US EPA, 1998. Health risk assessment/characterization of drinking water disinfection byproduct chlorofome. Prepared for Health and ecological Criteria Division, Office of Science and Technology. U.S. Environmental Protection Agency, Risk: Washington.

5. ÉTABLISSEMENT DNEL POUR LES EFFETS SYSTEMIQUES ET REPROTOXIQUES DE L'HEXACHLOROBENZENE (118-74-1)

5.1 INTRODUCTION

L'hexachlorobenzène (HCB) a été largement utilisé par le passé comme pesticide en agriculture, pour prévenir la croissance des champignons sur les semences, mais cette application a cessé dans de nombreux pays depuis les années 70 en raison des interdictions et des restrictions sur son utilisation (ATSDR, 2002). Il a également été utilisé en milieu industriel pour la fabrication d'articles pyrotechniques, de munitions, mais ces utilisations ont été abandonnées (IARC, 2001). Bien que sa production soit arrêtée, l'HCB est encore libéré dans l'environnement, en tant que sous-produit de la fabrication de divers composés chlorés et/ou impureté de la synthèse de pesticides. De petites quantités d'hexachlorobenzène peuvent aussi être produites lors de la combustion des processus tels que la combustion de déchets de la ville (ATSDR, 2002). L'HCB est bioaccumulable et persistant. Il est omniprésent dans l'air, l'eau, le sol et les matrices biologiques, ainsi que dans les principaux compartiments de l'environnement. L'exposition à cette substance est un problème de santé publique en raison de son large éventail d'effets néfastes sur la santé (Reed *et al.*, 2007).

Les différentes étapes de la construction de DNEL pour les effets reprotoxiques et hépatiques de l'HCB selon la méthodologie décrite dans le TGD (mai 2008) sont présentées ci-dessous. La synthèse sur la toxicité de l'HCB présentée ci-dessous s'appuie sur les données rapportées dans les monographies de l'ATSDR (2002), de l'IARC (2001) et de l'OMS (1997, 2003).

5.2 TOXICITE DE L'HCB

L'hexachlorobenzène est un composé organochloré pour lequel ont été rapportés des effets létaux, des effets systémiques (foie, peau, os et thyroïde), neurologiques, endocriniens, immunologiques et des effets sur développement chez l'homme (ATSDR, 2002). La consommation accidentelle par l'homme d'une grande quantité d'hexachlorobenzène a entraîné une porphyrie cutanée retardée, une toxicité hépatique, des effets neurologiques et des effets sur la peau, persistants (IARC, 2001). L'HCB est classé par l'Union Européenne comme toxique par ingestion avec risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion (T, R48/25).

Les principaux effets mis en évidence sont des effets sur le foie, sur la reproduction, sur le développement et le développement de cancers (ATSDR, 2002). L'HCB a été classé en Catégorie 2 (substance devant être assimilée à une substance cancérigène pour l'homme) de l'Union Européenne en 1996. L'IARC a classé l'HCB dans le groupe 2B (la substance pourrait être cancérigène pour l'homme) en 2001. Ce classement a été réalisé à partir de données inadéquates chez l'homme et de preuves suffisantes chez l'animal.

Dans le contexte de la comparaison VTR/DNEL, il a été jugé approprié d'élaborer des DNEL pour les effets sur la reproduction, sur le développement et pour les effets hépatiques.

5.3 EFFETS CRITIQUES

5.3.1 EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT

Les études chez l'homme et chez l'animal ont montré que l'HCB traverse la barrière placentaire, s'accumule dans les tissus fœtaux et passe dans le lait maternel (ATSDR, 2002 ; INERIS, 2008).

Il n'y a pas d'étude chez l'animal disponible par inhalation. Chez l'homme, il n'a pas été mis en évidence d'effets sur l'incidence d'avortements spontanés, de faible poids de naissance, ou de malformations congénitales chez des femmes ayant travaillé dans une usine d'électrochimie en Espagne, alors que les concentrations sanguines étaient 5 fois supérieures à la normale (Sala *et al.*, 1999b ; ATSDR, 2002). L'exposition orale à l'HCB a été associée à une toxicité sérieuse pour le développement d'après les informations liées à un empoisonnement en Turquie en 1955 par ingestion de pain contaminé par l'HCB en tant que fongicide (Peters *et al.*, 1987, cité dans IARC, 2001). Les quantités ingérées ont été estimées entre 0,7 et 2,9 mg/kg-j. Un taux de mortalité de 95 % a été rapporté chez les nourrissons de moins de 2 ans qui ont été allaités par des mères exposées, mortalité liée à une défaillance cardiorespiratoire. Les enfants de moins de 15 ans étaient également plus susceptibles que les adultes, et ont développé des effets immédiats (10% mortalité, lésions cutanées) et persistants (effets cutanés, neurologiques, musculosquelettiques, hépatiques, thyroïdiens).

Les études chez l'animal ont montré que l'HCB induit une altération du développement neurologique et une réduction de la viabilité néonatale et de la croissance néonatale ; un effet tératogène n'étant pas exclu.

- ✓ Goldey et Taylor (1992) ont mis en évidence des atteintes neurologiques à la dose de 2,5 mg/kg-j chez le rat suite à exposition maternelle pendant 4 jours avant l'accouplement. En effet, des tests comportementaux (orientation, activité motrice, réactivité au stimulus) ont mis en évidence une hyperactivité des nouveau-nés. Dans une étude sur deux générations (Lilienthal *et al.*, 1996 ; cité dans ATSDR, 2002), aucun changement n'est rapporté dans le comportement ordinaire jusqu'au 21^{ème} jour après la naissance mais un allongement du temps de réponse aux tests d'apprentissage pratiqués au 150^{ème} jour a été mis en évidence à 1,3 mg/kg-j.
- ✓ D'autres études sur la toxicité pour le développement ont examiné, à doses plus élevées, des paramètres classiques. Chez le rat, une augmentation du nombre de cas de variations squelettiques a été rapportée à 40 mg/kg-j (Khera, 1974a ; cité dans ATSDR, 2002). Dans cette étude, à 80 mg/kg-j, une diminution du poids corporel des fœtus et des mères a également été observée, ainsi que d'autres effets chez les mères. Toutefois, ces effets sur l'organogenèse n'ont pas pu être reproduits d'après les auteurs (OMS, 2003). L'hexachlorobenzène a induit des malformations structurelles comprenant une non-fermeture de la voûte palatine, une hypertrophie rénale et une hydronéphrose chez les souris CD-1 exposées *in utero*, les mères ayant été exposées des jours 6 à 16 de gestation à des doses de 10 à 50 mg/kg-j d'HCB dans l'alimentation (Andrews et Courtney, 1986 ; IARC, 2001). Les auteurs rapportent que les effets étaient similaires à ceux liés à une exposition à la dioxine, suggérant la présence possible de dioxine comme impureté dans l'HCB utilisé (qualité technique). L'IARC souligne que même à 99% d'HCB, un effet lié à une contamination par la dioxine est possible en raison de la forte tératogénicité de la dioxine.
- ✓ Chez le rat, deux études de reproduction ont mis en évidence des effets sur le développement. Une diminution de la survie des nouveau-nés a été rapportée chez le rat à 2 mg/kg-j après exposition *in utero* et *via* la lactation (génération F0 exposée 3 semaines avant l'accouplement et jusqu'au sevrage de la génération F1)

(Arnold *et al.*, 1985). Dans une étude sur quatre générations, une diminution du poids fœtal a été rapportée à 4 mg/kg-j ainsi qu'une diminution de la viabilité des portées à 8 mg/kg-j (Grant *et al.* 1977 ; cité dans ATSDR, 2002). Des effets similaires ont été rapportés aux mêmes niveaux de doses dans une étude sur une génération au cours de laquelle la F0 était exposée dans l'alimentation à 60-140 mg/kg d'HCB (Kitchin *et al.*, 1982 ; cité dans ATSDR, 2002). En outre, dans une étude de développement chez le singe, deux fœtus sur trois dont la mère était traitée par de l'HCB par gavage à 64 mg/kg-j sont morts après 15 et 38 jours de traitement, en l'absence de signes maternels de toxicité (Bailey *et al.* 1980; Iatropoulos *et al.* 1978, cités dans ATSDR, 2002, IARC, 2001).

- ✓ Par ailleurs, des effets immunologiques (hypersensibilité retardée) ont été mis en évidence chez la souris à 0,5 mg/kg-j après traitement *via* la nourriture du 1^{er} au 18^{ème} jour de la gestation (Barnett *et al.* 1987 ; cité dans ATSDR, 2002). Dans cette étude, des effets sur la rate, comprenant une diminution du nombre de cellules B et de la réponse des lymphocytes, ont été observés à 5 mg/kg-j mais n'ont pas été retrouvés à la dose de 0,5 mg/kg-j. Une augmentation des réponses immunitaires (augmentation de la réponse à IgM après toxine tétanique) a été rapportée chez le rat à 0,2 mg/kg-j chez les nouveau-nés dont les mères avaient été exposées par gavage pendant la gestation et l'allaitement. A 2,5 mg/kg-j il a été observé une diminution de la résistance à l'infection et une prolifération des ganglions et à la dose la plus élevée de cette étude de 5 mg/kg-j, une augmentation des poids des ganglions lymphatiques poplités (Vos *et al.* 1983 ; cité dans ATSDR, 2002).

5.3.2 EFFETS SUR LA REPRODUCTION

Il n'y a pas de données humaines ou animales par inhalation. Par voie orale, des études épidémiologiques suggèrent que l'hexachlorobenzène peut provoquer un avortement spontané. Dans une étude rétrospective menée 40 ans après l'épidémie en Turquie (empoisonnement accidentel des mères, cf supra) menées chez des femmes souffrant de porphyrie cutanée et exposées dans l'enfance lors de l'épidémie, une relation a été mise en évidence entre la concentration sanguine en HCB et le taux de fausses couches mais aucune association n'a été montrée entre les concentrations sanguines en hormones et le taux d'HCB (Jarrell *et al.* 1998, cité dans ATSDR, 2002 et IARC, 2001). Une augmentation statistiquement significative des niveaux d'inhibine, hormone sécrétée par les cellules de la granulosa des ovaires afin de diminuer la libération de l'hormone hypophysaire stimulant le follicule (FSH), a été observée chez ces femmes. Comme il n'est pas possible de lier l'effet à des niveaux d'exposition, la signification biologique n'est pas claire, mais ces effets sur l'ovaire sont compatibles avec les effets ovariens mis en évidence chez l'animal (ATSDR, 2002). Une étude cas témoin en Allemagne a rapporté une association entre la concentration sanguine en HCB et une légère diminution en marqueurs d'immunité (CD8, rapport CD4/CD8) mais pas avec le risque d'avortement spontané (Gerhard *et al.*, 1998 ; cité dans IARC, 2001).

Les études chez l'animal ont mis en évidence des effets néfastes sur la fonction de reproduction (diminution de fertilité, augmentation du nombre de mort-nés) à des doses d'au moins 16 mg/kg-j (Grant *et al.*, 1977; Simon *et al.*, 1979, cités dans ATSDR, 2002), sur les testicules à des doses de 10 mg/kg-j (Gralla *et al.*, 1977a ; Smith *et al.*, 1985 ; cités dans ATSDR, 2002). Les ovaires sont l'organe cible de toxicité de l'hexachlorobenzène :

- Des études de distribution ont identifié les ovaires comme site de l'accumulation de l'hexachlorobenzène (Foster *et al.*, 1993, Sitarska *et al.*, 1995 ; cités dans ATSDR, 2002).

- Les effets sur les ovaires ont été mis en évidence chez le singe après exposition pendant 90 jours à 0,01 mg/kg-j (Bourque *et al.* ; 1995).
- Ces effets sont supportés par d'autres études subchroniques (60 ou 90 jours) chez le singe ayant mis en évidence des effets sur les ovaires à des doses de 0,1 à 10 mg/kg-j (Babineau *et al.*, 1991 ; Foster *et al.*, 1992a, 1992b, 1995a, 1995b ; Jarrell *et al.*, 1993 ; Sims *et al.*, 1991 ; Iatropoulos *et al.*, 1976; cités dans ATSDR, 2002). Des variations des taux sériques des hormones gonadiques ont aussi été rapportées (Knauf et Hobson 1979; Muller *et al.*, 1978; ATSDR, 2002). Même si les doses administrées étaient supérieures à celles chez le singe (supérieures à 1 mg/kg-j), des études chez le rat ont rapporté des effets après exposition subchronique (Alvarez *et al.*, 2000 ; MacPhee *et al.*, 1993; Foster *et al.*, 1992b, 1995a, 1995b ; cités dans ATSDR, 2002). Des études de toxicité aiguë ont mis en évidence des effets à doses plus élevées, par exemple des modifications morphologiques chez le rat après administration par gavage d'une dose unique de 400 mg/kg-j (Lecavalier *et al.*, 1994; ATSDR, 2002).
- Les effets correspondent à une modification pondérale, des altérations dégénératives histologiques et ultrastructurales de l'ovaire et une modification des taux sériques en hormones gonadiques (oestrogène et progestérone).
- Les effets sur les ovaires ont été observés en l'absence d'autre indice de toxicité.
- Une étude a identifié que l'HCB modifiait la stéroïdogénèse (Foster *et al.*, 1995 ; ATSDR, 2002).

5.3.3 EFFETS HEPATIQUES

L'hexachlorobenzène est toxique sur le foie. Après exposition long terme chez le rat par l'alimentation à des doses allant jusqu'à 1000 mg/kg de poids corporel d'HCB (pureté 93-95%), les effets observés sont notamment hypertrophie hépatocellulaire et nécrose, hypertrophie de la rate et porphyrie (IARC, 2001).

L'effet hépatique le mieux identifié à la suite d'une exposition humaine au HCB est la porphyrie, comme mis en évidence lors de l'empoisonnement en Turquie. Les effets liés à une exposition par voie orale à l'hexachlorobenzène dans les études animales comprennent la perturbation de synthèse de l'hème (porphyrie), ainsi que l'induction enzymatique, une hépatomégalie et des dommages cellulaires (ATSDR, 2002). La relation entre la porphyrie et les autres effets hépatiques est incertaine. Dans certains cas, les effets sur le poids du foie, sur les enzymes, et/ou des effets histopathologiques ont été rapportés chez le rat à des doses inférieures à la porphyrie ou en l'absence de porphyrie (par exemple, Arnold *et al.* 1985; Gustafson *et al.* 2000; Kishima *et al.* 2000; Mehendale *et al.* 1975; Mollenhauer *et al.* 1975; Michielsen *et al.* 2000 ; cités dans ATSDR, 2002). Les lésions du foie ont été également observées chez d'autres espèces, comme les singes, les chiens et les porcs, où il n'existe pas de preuve d'un effet porphyrinogène (Den Tonkelaar *et al.* 1978; Gralla *et al.* 1977a; Iatropoulos *et al.* 1976; Jarrell *et al.* . 1993, cités dans ATSDR, 2002).

5.3.4 MECANISME D'ACTION

Différentes hypothèses sont avancées pour la toxicité hépatique du HCB, les mécanismes et sa capacité à induire une porphyrie. Des études *in vitro* ont montré que l'HCB n'exerce pas d'action directe sur l'uroporphyrinogène décarboxylase. Par exemple, dans une étude chez le rat, il a été proposé que le groupement histidine de l'enzyme

dans la zone de liaison au substrat soit à la base de l'action porphyrinogène *in vivo* de l'HCB (Billi de Catabbi *et al.* 1991). Une autre étude (chez le rat et la souris) a montré que la porphyrie induite par l'HCB était le résultat d'une modification du groupe sulfhydryl de la décarboxylase sur les sites de liaison au substrat et le site catalytique (Elder et Urquhart 1986).

Cohérence des données animales et humaines

De nombreuses études chez l'animal sont disponibles, menées au sein de plusieurs espèces et mettant en évidence des effets sur le système reproducteur, sur le développement et sur le foie. S'agissant des effets hépatiques, les effets apparaissent similaires entre l'animal et l'homme (ATSDR, 2002). Même si le mécanisme d'action n'est pas clairement élucidé et qu'il n'est pas possible de dire si le mode d'action est transposable à l'homme, aucun élément ne vient contredire cette hypothèse. Aussi, les effets sont jugés transposables à l'homme et sont retenus comme effets critiques pour l'établissement de DNEL.

5.4 CONSTRUCTION DES DNEL POUR LES EFFETS HEPATIQUES DE L'HEXACHLOROBENZENE

Concernant la voie orale, le TGD juge pertinent de n'élaborer que des DNELs pour la population générale.

5.4.1 ETAPE A: SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES

L'analyse bibliographique menée dans les bases de données pubmed et toxnet n'a pas permis d'identifier d'étude plus récente et/ou pertinente pour l'élaboration d'une relation dose-réponse.

Johnson *et al.* (2005) ont étudié les effets chez le rat (10/ dose) après exposition de 13 semaines par gavage dans l'huile de maïs à des doses de 0,03 - 0,1 - 0,3 - 1 - 3 - 10 et 25 mg/kg-j. Les poids relatif et absolu du foie ont été augmentés à 10 mg/kg-j et une hypertrophie hépatocellulaire a été mise en évidence à 3 mg/kg-j. En considérant ces effets, le NOAEL pour les effets hépatiques est identifié à 0,1 mg/kg-j, soit plus élevé que celui déterminé dans l'étude chronique de Arnold *et al.*, (1985) retenue par l'US EPA pour l'élaboration de sa RfD. Par ailleurs, des effets sur l'activité enzymatique hépatique sont rapportés dès 0,03 mg/kg-j pour le cytochrome CYP2B (0,3 mg/kg-j CYP1A2 et 1 mg/kg-j CYP1A1). Seul le résumé de l'étude est publié et aucun commentaire n'est disponible pour la pertinence de retenir comme adverse les effets enzymatiques. Il s'agit par ailleurs d'une étude sub-chronique. Dans le cadre de l'analyse comparative, l'élaboration de la DNEL s'est appuyée sur la même étude clé que celle retenue par les instances ayant élaboré les VTR.

L'US EPA a estimé sa RfD à partir de l'étude de Arnold *et al.*, (1985), le NOAEL retenu dans cette étude pour les effets hépatiques est de 0,08 mg/kg/j. Le détail et l'évaluation de la qualité scientifique de cette étude est présenté ci-dessous.

Arnold et al. (1985) :

- **Espèce étudiée :** rat SD.
- **Sexe et nombre d'animaux par lot :** 50/sexe/dose.

DRC-08-94380-12195A

- **Voie d'exposition** : orale, alimentation.
- **Substance et forme chimique** : hexachlorobenzène, qualité analytique
- **Temps et fréquence d'exposition** : 130 semaines (vie entière).
- **Doses d'exposition** : 0,32 - 1,6 - 8 - 40 ppm de HCB. D'après l'US EPA, équivalent à 0,016 - 0,08 - 0,3 - 2 mg/kg pc/j.
- **Groupe témoin** : oui.
- **Détail du protocole expérimental** : Les animaux F0 (40/sexe/dose) ont été exposés 3 semaines avant l'accouplement et jusqu'au sevrage de la génération F1 (pnd 21). La génération F1 (50/sexe/dose) a été exposée *in utero* puis du sevrage à la fin de vie (130 semaines), aux mêmes concentrations que les concentrations de la génération F0. Les animaux F0 ont été sacrifiés au sevrage de F1. Les animaux ont été observés deux fois par jour pour l'apparition de signes de toxicité, les poids corporels et la consommation alimentaire ont été mesurés toutes les semaines. Les paramètres hématologiques ont été mesurés régulièrement. Un examen histopathologique de nombreux organes et tissus (35) a été mené sur F0 et F1 : foie, thyroïde, reins, vessie, utérus, testicules, poumon,...
- **Effet(s) observé(s)** : Aucune modification sur les poids corporels, la consommation alimentaire ou les paramètres hématologiques n'a été observée en F0 ou en F1. A 8 ppm chez les mâles F0, les poids absolus du foie, du cerveau et du cœur ont été augmentés ainsi que le poids relatif du foie et à 40 ppm, il ne s'agissait que du poids relatif du foie et du poids absolu du cœur. Des modifications histologiques mineures du foie et des reins ont été observés chez tous les groupes d'animaux F0 (exposés et témoins), à la même fréquence. Aucun effet sur la fertilité, la gestation n'a été observé mais une diminution de la survie a été observée à 40 ppm. En F1, à 40 ppm, une augmentation statistiquement significative des tumeurs a été observée : adénomes de la parathyroïde chez les mâles, phéochromocytome et nodules néoplasiques du foie chez les femelles. L'augmentation de l'incidence de ces tumeurs a suivi une relation dose-réponse, laquelle a été significative pour le phéochromocytome pour les mâles et les femelles. Toutefois, en raison de la diminution de la survie des animaux (>50% à partir de la semaine 104), il n'est pas possible de conclure sur les résultats de cancérogénèse. A 8 ppm, des modifications histologiques du foie ont été observées chez les deux sexes : chromogénèse centrilobulaire des basophiles. D'autres effets hépatiques tels qu'une lymphocytose péri-biliaire chez les mâles et une péliose chez les femelles ont été observés dès la plus faible dose mais une relation dose-réponse linéaire a été mise en évidence ; le nombre d'animaux affectés a été, de la plus faible à la plus forte dose, respectivement :
 - Lymphocytose : 27/48, 26/48, 21/49, 32/49 et 16/48 chez les témoins. A 8 ppm, l'incidence (21/49) n'a pas été statistiquement différente du contrôle.
 - Péliose : 7/49, 3/50, 5/49, 11/49 et 3/49 chez les témoins. Aucune différence statistiquement avec les contrôles.
- **Conclusion / Possibilité de déterminer un NOAEL ou un LOAEL** : à partir de 8 ppm, des effets hépatiques sont observés, le NOAEL est donc fixé à 1,6 ppm d'HCB dans l'alimentation. Sur la base des poids corporels et la consommation alimentaire en semaine 30 donnés par les auteurs, la dose est de 0,08 mg/kg-j de poids corporel.
- **Qualité de l'étude** : 2

Tableau 50 : Dose critique définie pour les effets hépatiques de HCB et retenue pour l'élaboration des VTR/DNEL

Etude retenue	Dose critique établie	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Arnold <i>et al.</i> , 1985	NOAEL=0,08 mg/kg-j	Ingestion - <i>In utero</i> + 130 semaines	Effet sur le foie - Chromogénèse centrilobulaire des basophiles	Rat SD

5.4.2 ETAPE B: MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACH, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

5.4.2.1 AJUSTEMENT PAR RAPPORT AUX DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Il est généralement considéré que l'absorption par voie orale est identique chez l'animal et l'homme. Dans le cas du HCB, en l'absence de données particulières, l'hypothèse est conservée et la dose critique n'est pas corrigée à cette étape.

5.4.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

5.4.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Les rats ont été exposés par ingestion de nourriture. Ce mode d'exposition est continu, les doses critiques n'ont pas à être ajustées selon les conditions d'exposition.

5.4.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

Cet ajustement n'a pas à être pris en compte dans le cas d'une exposition voie orale.

5.4.3 ETAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

5.4.3.1 EXTRAPOLATION INTER-ESPECES

Ce facteur prend en considération les différences de sensibilité entre l'animal et l'homme, en s'appuyant sur l'hypothèse par défaut que l'homme est plus sensible que l'animal. Les différences de sensibilité résultent de différences toxicocinétiques et toxicodynamiques entre l'animal et l'homme. Certaines différences toxico cinétiques

peuvent s'expliquer par des différences de taille et par les différences de taux métabolique associées. La procédure par défaut du TGD consiste à corriger les différences de taux métabolique entre les espèces (ajustement allométrique, facteur AS), puis à appliquer un facteur supplémentaire de 2,5 pour les différences toxicodynamiques et toxicocinétiques non liées au taux métabolique.

Toutefois, le TGD précise que l'ajustement allométrique est une approche empirique applicable pour les composés éliminés essentiellement par voie rénale. Ce n'est pas le cas du HCB qui est éliminé sous forme métabolisée dans les urines et sous forme inchangée par voie fécale. De même, l'ajustement allométrique est approprié pour les substances dont la clairance dépend d'une cinétique de premier ordre or l'HCB s'accumule dans le tissu adipeux. Ainsi, l'ajustement allométrique ne s'applique pas.

D'après le TGD, les informations spécifiques à une substance peuvent être utilisées pour déterminer les différences inter-espèces, dûment justifiées et utilisées au cas par cas. Les éléments de distribution de l'HCB disponibles (distribution non homogène, bioaccumulation dans le tissu adipeux en raison du caractère lipophile), de cinétique (métabolisation par les cytochromes en composés benzéniques et phénoliques chlorés et conjugaison au glutathion, élimination par voie fécale) (OMS, 2003 b) et l'absence d'information sur la toxicodynamie ne permettent pas d'ajuster le facteur d'incertitude.

Ainsi, la valeur de 10 classiquement retenue pour le facteur d'incertitude inter-espèces a été appliquée, indépendamment de la procédure du TGD.¹⁵

5.4.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

La méthodologie DNEL préconise pour la population générale l'application d'un facteur 10 par défaut qui a été retenue ici.

5.4.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La DNEL est établie pour les effets chroniques. La durée d'exposition dans l'étude retenue (Arnold *et al.*, 1985) est de 130 semaines et ne nécessite pas l'application d'un facteur d'incertitude pour l'inadéquation de la durée d'exposition de l'étude expérimentale utilisée (AF = 1).

5.4.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Un NOAEL a été mis en évidence dans l'étude retenue. De ce fait, ce facteur d'incertitude ne s'applique pas.

5.4.3.5 QUALITE DES DONNEES

Les effets hépatiques ont été identifiés comme effet critique chez les animaux exposés par voie orale. L'étude retenue est jugée de bonne qualité. Ainsi, aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

¹⁵ En prenant en compte l'ajustement allométrique, la valeur du facteur d'incertitude aurait également été de 10 car il s'agit d'une étude chez le rat (AS=4). Toutefois, le raisonnement suivi est différent de la procédure par défaut du TGD.

5.4.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global à appliquer à la dose critique corrigée est égal à 100 (10 x 10)

Le calcul de la DNEL pour les effets hépatiques du HCB est présenté dans le tableau 25 et la synthèse des résultats est présentée dans le tableau 26.

*Tableau 51 : Calcul de la DNEL population générale pour
Les effets hépatiques du HCB*

	Arnold <i>et al.</i> , 1985
<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>	
Dose critique retenue	NOAEL = 0,08 mg/kg-j
<i>Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustement</i>	
Différences d'absorption animal / homme	
Ajustement de la voie d'exposition	
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)	
Ajustement des volumes respiratoires	
NOAEL corrigé = NOAEL inhalation × facteurs d'ajustement	0,08 mg/kg-j
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>	
Facteurs d'incertitude	
Extrapolation inter espèces	10
Variabilité intra espèces	10
Transposition de durée d'exposition	1
Relation dose réponse	1
Qualité des données	1
Facteur d'incertitude global	100
Calcul de la DNEL	= 0,08 / 100 = 0,0008 mg/kg-j

**Tableau 52: Synthèse de la construction de la DNEL dérivée
pour les effets hépatiques de l'HCB**

Effet	Voie - durée d'exposition	Dose critique corrigée	AF	DNEL	Etude toxicologique utilisée
Effet hépatique	Ingestion (alimentation) Exposition chronique	NOAEL = 1,6 ppm d'HCB soit 0,08 mg/kg-j de poids corporel Dose critique non ajustée	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	0,0008 mg/kg-j	Arnold <i>et al.</i> , 1985

5.5 DISCUSSION

5.5.1 COMPARAISON NUMERIQUE

La DNEL calculée dans l'étude de cas pour les effets hépatiques de l'HCB est comparée aux VTR " académiques " existantes. Parmi les 6 bases consultées proposant des VTR (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), l'US EPA (IRIS), l'US EPA a proposé une RfD et l'ATSDR une MRL pour les effets hépatiques de l'HCB sur la base de la même étude source (Arnold *et al.*, 1985). Les valeurs sont présentées dans le tableau 27.

**Tableau 53 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles dans la littérature
pour les effets hépatiques du HCB**

Instance	Effet	Voie - durée d'exposition	Dose critique	UF	VTR	Etude utilisée
US EPA (1991)	Effet hépatique	Ingestion (alimentation) Exposition chronique	NOAEL = 1,6 ppm d'HCB soit 0,08 mg/kg-j de poids corporel Dose critique non ajustée	100 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce)	RfD = 0,0008 mg/kg-j	Arnold <i>et al.</i> , 1985
ATSDR (2002)	Effet hépatique : fibrose et lymphocytose péri-biliaire	Ingestion (alimentation) Exposition chronique	LOAEL = 0,32 ppm d'HCB soit 0,0016 mg/kg-j de poids corporel Dose critique non ajustée	300 = 10 (Inter-espèce) × 10 (Intra-espèce) × 3 (LOAEL)	MRL = 0,00005 mg/kg-j	Arnold <i>et al.</i> , 1985

La DNEL dérivée pour les effets sur le foie/ population générale/ exposition chronique est égale à 0,0008 mgKg-j. Elle est ainsi équivalente à celle de l'US EPA et supérieure d'un facteur 15 à celle de l'ATSDR. Santé Canada propose une DJA de 5.10^{-4} mg/kg/j (1992) établie à partir de plusieurs études expérimentales, la dose critique retenue est le NOAEL de 0,05 mg/kg-j pour les effets hépatiques chez le porc d'après une étude de 90 jours (Tonkelaar *et al.*, 1978). Comme l'étude source est différente, la VTR de Santé Canada n'est pas retenue pour la comparaison.

5.5.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

Cette comparaison méthodologique repose sur l'analyse des étapes de modification de la dose critique en une DNEL ou une VTR pour les effets hépatiques du HCB.

5.5.2.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

Les données d'entrée qui ont été utilisées pour élaborer les VTR de l'US EPA, de l'ATSDR et la DNEL sont identiques. Néanmoins, la dose critique retenue est différente de celle de l'ATSDR en raison d'une différence d'interprétation des effets observés.

5.5.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

5.5.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Il est généralement considéré que l'absorption par voie orale est identique chez l'animal et l'homme. Dans le cas du HCB, en l'absence de données particulières, l'hypothèse est conservée pour la DNEL et pour les VTR.

5.5.2.2.2 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Les conditions d'exposition dans l'étude sélectionnée correspondent à l'exposition envisagée pour la population générale (continue, 24H/24), aucun ajustement n'est effectué pour la DNEL ou les VTR.

5.5.2.2.3 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

Cet ajustement n'a pas à être pris en compte dans le cas d'une exposition voie orale pour la population générale.

5.5.2.3 FACTEURS D'INCERTITUDE

5.5.2.3.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

La procédure par défaut du TGD consiste à corriger les différences de taux métabolique entre les espèces (ajustement allométrique, facteur AS), puis à appliquer un facteur supplémentaire de 2,5 pour les différences toxico-dynamiques et toxico-cinétiques non liées au taux métabolique. Toutefois, dans le cas du HCB qui n'est pas un composé éliminé par voie rénale, et les données ne permettant pas d'ajuster le facteur d'incertitude, la valeur de 10 classiquement retenue a été appliquée pour l'élaboration de la DNEL, tout comme elle a été utilisée pour la VTR de l'US EPA et de l'ATSDR.

5.5.2.3.2 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur classiquement retenu au sein de la communauté scientifique pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu pour l'élaboration de la DNEL et des VTR.

5.5.2.3.3 RELATION DOSE-REPONSE

L'US EPA ayant identifié un NOAEL, aucun facteur n'est appliqué. Un LOAEL est retenu par l'ATSDR pour les effets hépatiques et un facteur 3 est appliqué. Si l'effet critique retenu était identique, le même facteur de 3 pour l'utilisation d'un LOAEL aurait été appliqué pour l'élaboration de la DNEL ou de la VTR de l'US EPA.

5.5.2.3.4 TRANSPOSITION DE DUREE SUBCHRONIQUE A CHRONIQUE

Aucun facteur n'est appliqué, l'exposition étant chronique.

5.5.2.3.5 QUALITE DES DONNEES

Aucun facteur n'a été utilisé ni pour l'élaboration des DNEL, ni pour l'élaboration des VTR "académiques". De nombreuses études toxicologiques sont disponibles et ont mis en évidence les effets hépatiques du HCB après exposition par voie orale, l'étude sélectionnée est appropriée pour l'élaboration d'une relation dose-réponse.

5.6 CONCLUSION

De nombreuses similitudes existent dans les méthodologies d'élaboration des DNELs et des VTR. Dans le cas des effets hépatiques par ingestion d'HCB, les valeurs numériques et les raisonnements y ayant conduit sont identiques.

Dans le cas d'étude voie orale, comme les expositions sont continues, il n'y a pas d'ajustement de la dose critique. Or, dans les études de cas par inhalation, cet ajustement de la dose critique a été mis en évidence comme facteur différentiel entre DNEL et VTR.

De même, le facteur d'incertitude inter-espèces a été à l'origine de divergence dans les autres études de cas mais pas ici. Le raisonnement conduisant à l'application du facteur d'incertitude par défaut des DNEL (AS x 2,5) n'a pas été suivi compte tenu de la cinétique du HCB (élimination non essentiellement rénale) et le facteur d'incertitude interespèce est donc équivalent à celui de la VTR (valeur 10 par défaut). Toutefois, comme il s'agit d'une étude chez le rat, la valeur de 10 aurait également été retenue en suivant la procédure DNEL (ajustement allométrique), ce qui suggère que lorsque l'étude source utilisée est chez le rat, les divergences numériques VTR et DNEL sont moins marquées.

En outre, le jugement d'expert qui intervient pour la sélection de l'effet critique et de la dose critique est ici la raison de divergence entre DNEL et VTR. La différence avec la VTR de l'ATSDR réside dans l'interprétation des résultats de l'étude et la définition des effets critiques : les doses critiques associées aux effets critiques retenus par l'ATSDR ou la DNEL (comme l'US EPA) diffèrent d'un facteur 5 mais les effets rapportés par l'ATSDR sont considérés comme adaptatifs. La dose critique de l'ATSDR étant un LOAEL, un facteur d'incertitude supplémentaire de 3 est par ailleurs utilisé, lequel aurait également été utilisé pour l'élaboration de la DNEL. Ainsi, la méthodologie DNEL est similaire à celle des VTR et dans le cas de l'hexachlorobenzène, les valeurs sont numériquement identiques.

5.7 CONSTRUCTION DES DNEL POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DU HCB

Concernant la voie orale, le TGD juge pertinent de n'élaborer que des DNELs pour la population générale.

5.7.1 ETAPE A: SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES POUR LES EFFETS SUR LE DEVELOPPEMENT DU HCB

Dans le cadre de l'analyse comparative VTR académiques et DNEL, l'élaboration de la DNEL s'est appuyée sur la même étude clé que celle retenue pour l'élaboration des VTR. L'ATSDR a estimé sa MRL à partir de l'étude de Goldey et Taylor (1992), le LOAEL retenu dans cette étude pour les effets sur le développement (hyperactivité des nouveau-nés), est de 2,5 mg/kg/j. L'étude de Goldey et Taylor (1992) a pour but d'évaluer la neurotoxicité du développement de HCB en utilisant une batterie de tests de comportement chez les rats, l'exposition des fœtus repose sur le transfert maternel de l'hexachlorobenzène (exposition des mères avant la gestation, accumulation dans le tissu adipeux). Le détail de cette étude est présenté ci-dessous.

- **Espèce étudiée** : rat SD.
- **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 30 femelles/dose.
- **Voie d'exposition** : orale, gavage par intubation gastrique.
- **Substance et forme chimique** : hexachlorobenzène
- **Temps et fréquence d'exposition** : 4 jours, 2 semaines avant l'accouplement avec des mâles non exposés.
- **Doses d'exposition** : 2,5 - 25 mg/kg/j équivalent à une dose totale 10 - 100 mg/kg/j sur les 4 jours.
- **Groupe témoin** : oui.
- **Détail du protocole expérimental** : Les mères n'ont pas été exposées au cours de la gestation mais des mesures des concentrations maternelle (sanguine) et fœtale (tissulaire) ont été réalisées : une corrélation a été établie au cours de la gestation et pendant l'allaitement, les concentrations ont 6 à 10 fois plus élevées chez les fœtus (puis ont progressivement régressé en dessous du seuil de détection). Une batterie de tests neurocomportementaux a été réalisée sur les nouveau-nés non sevrés : test de réflexe moteur (géotaxis négatif) à pnd 6, 8 et 10, test de discrimination olfactive à pnd 9, 10, 11, test d'activité motrice aux pnd 15 à 20. Après sevrage, des tests d'activité motrice (pnd 40) et de capacité d'apprentissage (pnd 60) ont également été effectués.
- **Effet(s) observé(s)** : Aucun effet n'a été observé sur le poids des mères ou des fœtus, sur la durée de la gestation, le nombre de fœtus/portée ou le jour de l'ouverture des yeux. Les résultats des trois tests effectués sur les nouveau-nés non sevrés ont mis en évidence une hyperactivité aux deux doses testées. Aucun effet sur la capacité d'apprentissage ou l'activité locomotrice n'a été observé à pnd 40 et 60.
- **Conclusion / Possibilité de déterminer un NOAEL** : à partir de 2,5 mg/kg/j, une hyperactivité est rapportée qui est donc identifiée comme le LOAEL de l'étude.
- **Qualité de l'étude** : 2
- Le tableau 27 résume l'étude de Goldey et Taylor ayant permis de proposer un LOAEL pour les effets sur le développement de l'HCB.

Tableau 54 : Dose critique définie pour les effets sur le développement de HCB et retenue pour l'élaboration des VTR/DNEL

Etude retenue	Dose critique établie	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Goldey et Taylor, 1992	LOAEL=2,5 mg/kg-j	Gestation et lactation	Effet sur le développement - neurotoxicité (hyperactivité locomotrice)	Rat SD

5.7.2 ETAPE B: MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACH, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

5.7.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Les taux d'absorption mesurés par voie orale sont similaires entre l'animal et l'homme, de l'ordre de 80% (INERIS, 2008). La dose critique n'est donc pas ajustée à cette étape.

5.7.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

5.7.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Lorsque les conditions expérimentales chez l'animal diffèrent des conditions envisagées chez la population cible, le TGD indique qu'il convient d'ajuster les doses d'exposition lorsque l'effet toxique est induit par la dose totale (cumulée) ou s'il dépend à la fois de la dose cumulée et de la concentration d'exposition ; en outre, il est inadapté lorsque l'effet toxique est dépendant prioritairement de la concentration d'exposition. Les effets sur le développement sont considérés comme pouvant survenir après une seule exposition (fenêtre de sensibilité) aussi l'ajustement sur les conditions d'exposition n'est pas approprié pour l'établissement de DNELs.

5.7.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

Cet ajustement n'a pas à être pris en compte dans le cas d'une exposition voie orale.

5.7.3 ETAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

5.7.3.1 EXTRAPOLATION INTER ESPECES

La valeur de 10 classiquement retenue pour le facteur d'incertitude inter-espèces a été appliquée, indépendamment de la procédure du TGD (voir supra).

5.7.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

La méthodologie DNEL préconise pour la population générale l'application d'un facteur 10 par défaut qui a été retenue ici.

5.7.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La durée d'exposition des mères est de 4 jours, celle des fœtus est la gestation et la lactation. La DNEL dérivée du LOAEL sera de type aiguë et applicable pour les femmes enceintes ou en âge de procréer. De ce fait, il n'est pas nécessaire d'appliquer un facteur d'incertitude pour l'inadéquation de la durée d'exposition de l'étude expérimentale utilisée (AF = 1).

5.7.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Un LOAEL a été mis en évidence dans l'étude. Le TGD préconise l'application d'un facteur d'incertitude supplémentaire. Le valeur préconisée est de 3, 10 pouvant être occasionnellement utilisée dans le cas d'une sévérité particulière d'un effet observé ou en fonction de la courbe de relation dose-réponse . Ici, comme seulement deux doses ont été utilisées (espacement facteur 10), la forme de la courbe de relation dose-réponse ne peut pas être établie. L'effet observé est considéré comme minimal et un facteur de 3 a été retenu.

5.7.3.5 QUALITE DES DONNEES

Les effets sur le développement ont été mis en évidence chez l'homme et chez l'animal. L'étude retenue suit un protocole particulier : deux doses d'exposition pour les mères seulement, absence d'exposition maternelle au cours de la gestation, mais celui-ci étant justifié, aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

5.7.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global à appliquer à la dose critique corrigée est égal à $10 \times 10 \times 3$ soit 300.

Calcul de la DNEL développement :

DNEL= $2,5/300 = 0,0083$ mg/kg-j soit 0,008 mg/kg/j.

Le calcul de la DNEL pour les effets sur le développement du HCB est présenté dans le tableau 28. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 29.

Tableau 55 : Calcul des DNEL populations générales pour l'effet sur le développement du HCB

	Goldey et Taylor, 1992
<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>	
Dose critique retenue	LOAEL = 2,5 mg/kg-j
<i>Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustement</i>	
Différences d'absorption animal / homme	
Ajustement de la voie d'exposition	
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)	
Ajustement des volumes respiratoires	
NOAEL corrigé = NOAEL inhalation × facteurs d'ajustement	2,5 mg/kg-j
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>	
Facteurs d'incertitude	
Extrapolation inter espèces	10
Variabilité intra espèces	10
Transposition de durée d'exposition	1
Relation dose réponse	3
Qualité des données	1
Facteur d'incertitude global	300
Calcul de la DNEL	= 2,5 / 300 = 0,0083 mg/kg-j

Tableau 56 : Synthèse de la construction de la DNEL dérivée pour l'effet sur le développement du HCB

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	DNEL= 0,008 mg/kg-j	LOAEL = 2,5 mg/kg-j Pas de correction dose critique	300 = 10 (Inter-espèces) × 10 (Intra-espèce) × 3 (Relation dose-réponse)	Goldey et Taylor, 1992

5.8 DISCUSSION

5.8.1 COMPARAISON NUMERIQUE

Parmi les 6 bases consultées proposant des VTR (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), l'US EPA (IRIS), l'ATSDR propose une VTR pour les effets sur le développement qui est présentée dans le tableau 30.

Tableau 57 : Valeur toxicologique de référence disponible dans la littérature (ATSDR)

Effet	Voie - durée d'exposition	VTR	Dose critique	AF	Etude utilisée
Effet sur le développement - Fœto-toxicité	Ingestion Exposition Aiguë	MRL= 0,008 mg/kg-j	LOAEL = 2,5 mg/kg-j Pas de correction dose critique	300 = 10 (Inter-espèces) × 10 (Intra-espèce) × 3 (Relation dose-réponse)	Goldey et Taylor, 1992

La DNEL dérivée pour les effets sur le développement/ population générale/ exposition aiguë est égale à 0,008 mg/Kg-j. La DNEL calculée ainsi est équivalente à la VTR de l'ATSDR.

5.8.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

5.8.2.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

La même étude clé (Goldey et Taylor, 1992) a été retenue pour l'élaboration de la VTR et de la DNEL, en conséquence, les données d'entrée sont identiques.

5.8.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

5.8.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Pour la DNEL, aucun ajustement n'est justifié car les données d'absorption sont considérées similaires entre animal et homme. De même, l'ajustement n'est pas effectué pour la VTR. Il est généralement considéré pour les VTR comme les DNELs que l'absorption par voie orale est identique chez l'animal et l'homme. Même s'il est vrai que les motivations de l'ATSDR ne sont pas explicitées puisque seule une publication de 1998 (Chou *et al.*, 1998). fait état des pratiques d'élaboration des MRL, il y a lieu de penser que cette hypothèse a été appliquée pour l'HCB.

5.8.2.2.2 AJUSTEMENT SUR LES CONDITIONS D'EXPOSITION

Les rats ont été exposés par ingestion pendant 4 jours, aucun ajustement n'est nécessaire.

5.8.2.3 FACTEURS D'INCERTITUDE

5.8.2.3.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

Le facteur empirique de 10 a été utilisé pour la DNEL, il est identique ainsi au facteur de la VTR.

5.8.2.3.2 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur classiquement retenu pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu pour l'élaboration de la DNEL et des VTR.

5.8.2.3.3 QUALITE DES DONNEES

Aucun facteur n'a été utilisé ni pour l'élaboration des DNEL ni pour l'élaboration de la VTR.

5.9 CONCLUSION

La DNEL et la VTR sont identiques numériquement et leur méthodologie d'élaboration également. L'ajustement allométrique n'étant pas approprié pour l'HCB, la procédure par défaut du TGD (approche structurée et chiffrée) n'a pu être suivie pour l'application du facteur de sécurité inter-espèces. Or, les recommandations du TGD sont dans ce cas moins précises. Aussi, le facteur appliqué pour la DNEL a été le facteur par défaut de 10, équivalent à celui de la VTR. A noter que même en suivant la procédure classique du TGD, comme l'étude source est menée chez le rat, le facteur inter-espèces aurait également été de 10 (2,4 x 2,5).

Cet exemple souligne ce que les études de cas précédentes laissaient envisager : les différences VTR/DNEL sont moins marquées pour la voie orale et la différence liée au facteur d'incertitudes inter-espèces est limitée lors de l'exploitation d'une étude chez le rat.

5.10 CONSTRUCTION DES DNEL POUR LES EFFETS SUR LA FERTILITE DU HCB

Concernant la voie orale, le TGD juge pertinent de n'élaborer que des DNELs pour la population générale.

5.10.1 ETAPE A: SELECTION DES ETUDES CLES ET IDENTIFICATION DES DOSES CRITIQUES POUR LES EFFETS SUR LA FERTILITE DU HCB

Dans le cadre de l'analyse comparative VTR académiques et DNEL, l'élaboration de la DNEL s'est appuyée sur la même étude clé que celle retenue pour l'élaboration des VTR.

L'ATSDR a estimé sa MRL à partir de l'étude de Bourque *et al.* (1995) qui est le suivi de l'étude de Jarrell *et al.* (1993) et dont l'objectif a été de tester le potentiel toxique de l'HCB sur les ovaires. Le LOAEL retenu dans cette étude pour les effets sur la fertilité (altérations structurales des ovaires) est de 0,01 mg/kg/j. Le détail de ces 2 études est présenté ci-dessous.

Jarrell *et al.* (1993)

- **Espèce étudiée** : singe *Cynomolgus*.
- **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 4 femelles/dose.
- **Voie d'exposition** : orale, capsules de gélatine.
- **Substance et forme chimique** : hexachlorobenzène
- **Temps et fréquence d'exposition** : 90 jours.
- **Doses d'exposition** : 0,1 - 1 - 10 mg/kg/j.
- **Groupe témoin** : oui, administration de capsule avec du glucose.
- **Détail du protocole expérimental** : L'objectif de l'expérience était d'évaluer la sensibilité des cellules germinales ovariennes à des doses d'hexachlorobenzène qui ne produisent pas d'effets systémiques et en outre d'évaluer la fonction des ovocytes. A la fin de la période d'exposition, une analyse microscopique a été menée sur un ovaire de chaque singe, au jour 10, par microscope électronique à transmission. Un cycle de fertilisation *in vitro* avec les ovocytes des femelles traitées a été réalisé afin d'évaluer la fertilité. La fonction des ovocytes a été évaluée après stimulation ovarienne par l'hormone gonadotrophine humaine ménopausique.
- **Effet(s) observé(s)** : Aucune toxicité systémique, aucun effet hépatique (porphyrie), aucune modification de la fertilisation, du développement folliculaire ou de la maturation des ovocytes n'a été observée. En outre, chez tous les animaux exposés, une diminution du nombre total d'ovocytes et des follicules primordiaux ainsi que des modifications de l'épithélium des ovaires (notamment agrégation des lysosomes dans le cytoplasme des follicules, augmentation de la densité du noyau des ovocytes) ont été rapportés. La sévérité des lésions observées a suivi une relation dose-dépendante.
- **Conclusion / Possibilité de déterminer un NOAEL ou un LOAEL** : à partir de 0,1 mg/kg/j, des altérations de la structure des follicules ovariens sont observées qui est donc identifié comme le LOAEL de l'étude
- **Qualité de l'étude** : 2

Bourque *et al.* (1995)

- **Espèce étudiée** : singe *Cynomolgus*.
- **Sexe et nombre d'animaux par lot** : 4 femelles/dose.
- **Voie d'exposition** : orale, capsules de gélatine.
- **Substance et forme chimique** : hexachlorobenzène
- **Temps et fréquence d'exposition** : 90 jours.
- **Doses d'exposition** : 0,01 - 0,1 - 1 - 10 mg/kg/j.

- **Groupe témoin** : oui, administration de capsule avec du glucose.
- **Détail du protocole expérimental** : à la fin de la période d'exposition, les animaux ont reçu, des jours 2 à 7 du cycle menstruel, une préparation contenant l'hormone stimulant la croissance folliculaire et l'hormone lutéinisante ainsi qu'au jour 8, l'hormone gonadotrophine chorionique. L'analyse microscopique a été menée sur un ovaire de chaque singe, au jour 10, par microscope électronique à transmission.
- **Effet(s) observé(s)** : à 0,01 mg/kg/j, les mitochondries des follicules étaient condensées et déformées. Aux doses supérieures, les mitochondries étaient altérées de manière plus intense et des modifications supplémentaires ont été rapportées telles qu'une accumulation de lipides dans les cytoplastes des follicules.
- **Conclusion / Possibilité de déterminer un NOAEL ou un LOAEL** : à partir de 0,01 mg/kg/j, des altérations de la structure des follicules ovariens sont observées qui est donc identifié comme le LOAEL de l'étude.
- **Qualité de l'étude** : 2
- Le tableau 31 résume l'étude de Bourque *et al* ayant permis de proposer un LOAEL pour les effets sur la fertilité de l'HCB.

Tableau 58 : Dose critique définie pour les effets sur le développement de HCB et retenue pour l'élaboration des VTR/DNEL

Etude retenue	Dose critique établie	Voie - Durée d'exposition	Effet critique	Espèces animales
Bourque <i>et al.</i> , 1995	LOAEL=0,001 mg/kg-j	Voie orale - Sub-chronique (90 j)	Effet sur la fertilité - altération microscopique des ovaires	Singe cynomolgus femelle

5.10.2 ETAPE B: MODIFICATION SI BESOIN, DE LA DOSE CRITIQUE PERTINENTE POUR L'EFFET CONSIDERE EN UNE DOSE CRITIQUE CORRIGEE

Conformément au TGD du règlement REACH, différents ajustements de la dose critique sont réalisés en fonction des données expérimentales disponibles et des situations d'exposition humaine.

5.10.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Les taux d'absorption mesurés par voie orale sont similaires entre l'animal et l'homme, de l'ordre de 80% (INERIS, 2008), la dose critique n'est donc pas ajustée à cette étape.

5.10.2.2 AJUSTEMENT PAR TRANSPOSITION VOIE A VOIE

Compte tenu que les voies d'exposition dans l'étude sélectionnée et dans le contexte d'exposition humaine sont similaires, la transposition voie à voie n'est pas justifiée.

5.10.2.3 AJUSTEMENT DES CONDITIONS D'EXPOSITION

Dans l'étude de Bourque *et al.*, les animaux sont exposés par voie orale et aucun ajustement sur les conditions d'exposition n'est effectué.

5.10.2.4 AJUSTEMENT DES VOLUMES RESPIRATOIRES

Cet ajustement n'a pas à être pris en compte dans le cas d'une exposition voie orale.

5.10.3 ETAPE C : APPLICATION, SI BESOIN, DE FACTEURS D'INCERTITUDE A LA DOSE CRITIQUE CORRIGEE POUR OBTENIR LA OU LES DNEL POUR UN SCENARIO D'EXPOSITION PERTINENT

5.10.3.1 EXTRAPOLATION INTER ESPECES

Comme l'étude source est menée chez le singe, la procédure par défaut du TGD conduirait à l'application d'un facteur d'incertitude de $2 \times 2,5$ soit 5. Cependant, il n'est pas possible de suivre cette procédure car l'ajustement allométrique n'est pas jugé approprié pour l'HCB (cf. supra). Le TGD laisse libre à l'appréciation de l'expert le facteur à appliquer alors. La valeur de 10 classiquement retenue pour le facteur d'incertitude inter-espèces a été appliquée pour les effets hépatiques et les effets sur le développement, les études sources étant menées chez le rat. Ici, l'étude est réalisée chez le singe et l'application d'un facteur plus ajusté paraît pertinent ; la valeur de 3, comme souvent utilisée par les instances élaborant des VTR et comme a suivi l'ATSDR ici a été retenue.

5.10.3.2 VARIABILITE INTRA ESPECES

La méthodologie DNEL préconise pour la population générale l'application d'un facteur 10 par défaut qui a été retenue ici.

5.10.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La durée d'exposition est de 90 jours et la DNEL est établie pour une exposition chronique. Aussi, un ajustement d'un facteur 2 pour prendre en compte l'extrapolation de sub-chronique à chronique est appliqué, conformément aux recommandations du TGD.

5.10.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Un LOAEL a été mis en évidence dans l'étude. Le TGD préconise l'application d'un facteur d'incertitude supplémentaire. Le valeur préconisée est de 3, 10 pouvant être occasionnellement utilisée dans le cas d'une sévérité particulière d'un effet observé ou en fonction de la courbe de relation dose-réponse. Ici, un facteur de 3 a été retenu.

5.10.3.5 QUALITE DES DONNEES

Les effets sur la reproduction ont été mis en évidence chez plusieurs espèces animales et ont été suggérés par des études en population humaine. L'étude retenue est jugée de bonne qualité. Aucun facteur d'incertitude n'est appliqué.

5.10.3.6 CALCUL DU FACTEUR D'INCERTITUDE GLOBAL ET DE LA DNEL

Le facteur d'incertitude global à appliquer à la dose critique corrigée est égal à $3 \times 10 \times 2 \times 3$ soit 180.

Le calcul de la DNEL pour les effets sur le développement du HCB est présenté dans le tableau 32. La synthèse des résultats est présentée dans le tableau 33.

Tableau 59 : Calcul de la DNEL population générale pour l'effet sur la fertilité du HCB

	Bourque <i>et al.</i> , 1995
<i>Etape a : Sélection de la dose critique</i>	
Dose critique retenue	LOAEL = 0,01 mg/kg-j
<i>Etape b : Modification de la dose critique - Facteurs d'ajustement</i>	
Différences d'absorption animal / homme	
Ajustement de la voie d'exposition	
Ajustement des conditions d'exposition (expérimentale et humaine)	
Ajustement des volumes respiratoires	
NOAEL corrigé = NOAEL inhalation × facteurs d'ajustement	0,01 mg/kg-j
<i>Etape c : application des facteurs d'incertitude</i>	
Facteurs d'incertitude	
Extrapolation inter espèces	3
Variabilité intra espèces	10
Transposition de durée d'exposition	2
Relation dose réponse	3
Qualité des données	1
Facteur d'incertitude global	180
Calcul de la DNEL	= 0,01 / 180 = 0,000056 mg/kg-j

Tableau 60 : Synthèse de la construction de la DNEL dérivée pour l'effet sur la fertilité du HCB

Effet	Voie - durée d'exposition	DNEL	Dose critique	AF	Etude toxicologique utilisée
Effet sur la fertilité - altération des ovaires	Ingestion Exposition Sub-chronique	DNEL= 0,00005 mg/kg-j	LOAEL = 0,01 mg/kg-j Pas de correction dose critique	180 = 3 (Inter-espèces) × 10 (Intra-espèce) × 2 (Durée exposition) × 3 (Relation dose-réponse)	Bourque <i>et al.</i> , 1995

5.11 DISCUSSION

5.11.1 COMPARAISON NUMERIQUE

Parmi les 6 bases consultées proposant des VTR (US EPA, OEHHA, ATSDR, OMS/IPCS, RIVM, Santé Canada), l'ATSDR propose une VTR pour les effets sur la fertilité qui est présentée dans le tableau 61.

Tableau 61 : Valeur toxicologique de référence disponibles dans la littérature (ATSDR)

Effet	Voie - durée d'exposition	VTR	Dose critique	AF	Etude utilisée
Effet sur la fertilité - altération des ovaires	Ingestion Exposition Sub-chronique	MRL= 0,0001 mg/kg-j	LOAEL = 0,01 mg/kg-j	90 = 3 (Inter-espèces) × 10 (Intra-espèce) × 3 (Relation dose-réponse)	Bourque <i>et al.</i> , 1995

La DNEL dérivée pour les effets sur la fertilité est égale à 0,00005 mg/Kg-j, elle est inférieure d'un facteur 2 à la MRL de l'ATSDR mais celle-ci est établie pour une exposition intermédiaire. Un facteur 2 sépare la DNEL et la VTR, il correspond au facteur sur l'incertitude temporelle qui est appliqué pour utiliser la DNEL dans un contexte d'exposition chronique.

5.11.2 COMPARAISON METHODOLOGIQUE

5.11.2.1 SELECTION DE L'ETUDE CLE ET DE LA DOSE CRITIQUE

La même étude clé (Bourque *et al.*, 1995) a été retenue pour l'élaboration de la VTR et de la DNEL, en conséquence, les données d'entrée sont identiques.

5.11.2.2 AJUSTEMENT DE LA DOSE CRITIQUE

5.11.2.2.1 AJUSTEMENT SUR LES DIFFERENCES D'ABSORPTION ENTRE ANIMAUX ET HUMAINS

Pour la DNEL, aucun ajustement n'est justifié car les données d'absorption sont considérées similaires entre animal et homme. De même, l'ajustement n'est pas effectué pour la VTR. Il est généralement considéré que l'absorption par voie orale est identique chez l'animal et l'homme. Même s'il est vrai que les motivations de l'ATSDR ne sont pas explicitées puisque seule une publication de 1998 (Chou *et al.*, 1998). fait état des pratiques d'élaboration des MRL, il y a lieu de penser que cette hypothèse a été appliquée pour l'HCB.

5.11.2.2.2 AJUSTEMENT SUR LES CONDITIONS D'EXPOSITION

Les rats ont été exposés par ingestion, aucun ajustement n'a été effectué pour la DNEL ou la VTR.

5.11.2.3 FACTEURS D'INCERTITUDE

5.11.2.3.1 INCERTITUDES INTER-ESPECES

Le facteur empirique de 3 a été utilisé pour la DNEL, à l'image de celui qui a été appliqué pour la VTR, en conséquence les facteurs sont identiques.

5.11.2.3.2 VARIABILITE INTER-INDIVIDUELLE

Le facteur classiquement retenu pour la variabilité intra-espèces de 10 a été retenu pour l'élaboration de la DNEL et des VTR.

5.11.2.3.3 DUREE D'EXPOSITION ASSIMILEE A CHRONIQUE - INCERTITUDE TEMPORELLE

La durée d'exposition est de 90 jours et la DNEL est établie pour une exposition chronique. Aussi, un ajustement d'un facteur 2 pour prendre en compte l'extrapolation de sub-chronique à chronique est appliqué, conformément aux recommandations du TGD. L'ATSDR n'effectue pas d'extrapolation sur la durée d'exposition, la durée d'exposition de l'étude source utilisée définit le cadre d'application de la VTR, la MRL étant ici élaborée pour une exposition intermédiaire.

L'US EPA élabore des VTR qui sont utilisées pour des expositions chroniques, un facteur de 3 ou 10 aurait donc été appliqué. Toutefois, cette différence repose plus sur le cadre d'application des valeurs de référence que sur les méthodologies de construction.

5.11.2.3.4 RELATION DOSE -REPONSE

Un LOAEL a été mis en évidence dans l'étude et un facteur de 3 a été utilisé pour tenir compte de cette incertitude, comme pour la VTR. Pour les VTR, l'expérience montre que fréquemment un facteur 10 était utilisé pour tenir compte de l'incertitude lié à l'extrapolation depuis un LOAEL. Depuis, en suivant l'évolution des connaissances, il est fréquent de constater que les VTR construites plus récemment utilisent un facteur 3.

5.11.2.3.5 QUALITE DES DONNEES

Aucun facteur n'a été utilisé ni pour l'élaboration des DNEL ni pour l'élaboration de la VTR.

5.12 CONCLUSION

Les méthodologies d'élaboration DNEL et VTR sont identiques dans le cas des effets sur la fertilité de l'HCB. L'ajustement allométrique n'étant pas approprié pour l'HCB, la procédure par défaut du TGD (approche structurée et chiffrée) n'a pu être suivie pour l'application du facteur de sécurité inter-espèces. Or, les recommandations du TGD sont dans ce cas moins précises. Aussi, le facteur appliqué pour la DNEL a été similaire à celui de la VTR. En effet, l'utilisation d'un facteur communément utilisé pour l'établissement de valeurs de référence a été jugée pertinente.

Par ailleurs, aucun ajustement de la dose critique n'a été nécessaire car il s'agit d'une étude voie orale et les conditions d'exposition correspondent à celle de la population générale. Cet exemple souligne ce que les études de cas précédentes laissaient envisager : les différences VTR/DNEL sont moins marquées pour la voie orale.

En outre, cette étude de cas souligne que l'établissement de DNEL est un des lien entre l'identification du danger et la caractérisation du risque. Cette dernière étant fréquemment liée à des situations d'exposition chronique, les DNEL (et souvent les VTR) sont établies en référence à des expositions chroniques. L'ATSDR n'effectue pas ces transpositions. Ainsi, ici, un facteur 2 distingue la VTR de l'ATSDR et la DNEL, un facteur 2 ayant été pris en compte pour la transposition d'une exposition sub-chronique à chronique.

5.13 REFERENCES

1. Arnold DL, Moodie CA, Charbonneau SM et al., 1985. Long-term toxicity of hexachlorobenzene in the rat and the effect of dietary vitamin A. *Food Chem Toxicol*, 23 (9):779-793.
2. ATSDR, Toxicological Profile for Hexachlorobenzene, 2002, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Research Triangle Institute. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html#b>
3. Bourque AC, Singh A, Lakhanpal N, et al. 1995. Ultrastructural changes in ovarian follicles of monkeys administered hexachlorobenzene. *Am J Vet Res* 56(12):1673-1677.
4. Chou CHS, Holler J, De Rosa CT, Minimal risk level (MRLs) for hazardous substances, *Journal of Clean Technology, Environmental Toxicology and Occupational Medicine*, 1998, 7(1) : 1-24, cité dans Bonvallot N et Dor F, 2002. Valeurs Toxicologiques de Référence, méthodes d'élaboration. InVS, Département Santé Environnement.
5. ECHA 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment ; Chapter R.8 : Characterisation of dose [concentration]-response for human health. http://echa.europa.eu/REACH_en.asp
6. Goldey ES and Taylor DH. 1992. Developmental neurotoxicity following pre-mating maternal exposure to hexachlorobenzene in rats. *Neurotoxicol and Teratol*, 14: 15-21.

7. Jarrell J.F., McMahon A., Villeneuve D., *et al.* Hexachlorobenzene toxicity in the monkey primordial germ cell without induced porphyria. *Reprod Toxicol*, 1993; 7: 41-47.
8. Johnson JD, Vasconcelos D, Ryan M *et al.* (2005) Subchronic Toxicity Study Of Hexachlorobenzene (HCB) In Female Harlan Sprague-Dawley Rats. *Toxicol Sci* 2005 Mar;84(1-S):242
9. IARC, 2001. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 79, Some Thyrotropic Agents, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, <http://monographs.iarc.fr/>
10. INERIS, 2008. Hexachlorobenzène, Fiche de données toxicologiques et environnementales.
11. IPCS, Hexachlorobenzène Environmental Health Criteria 195, Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety.
12. OMS,2003a. Hexachlorobenzene. 2003, Guidelines value for drinking-water quality, World Health Organization.
13. OMS, 2003b.Hexachlorobenzene in drinking water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/03.04/54
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwg/chemicals/en/index.html#B
14. Reed L; Buchner V; Tchounwou PB. 2007. . Environmental toxicology and health effects associated with hexachlorobenzene exposure. *Rev Environ Health*. 22(3):213-438.
15. US EPA (IRIS), 1991. Hexachlorobenzene, Reference dose for chronic oral exposure (RfD), U. S. Environmental Protection Agency, Integrated Risk Information System (IRIS). Base de données consultée en juillet 2008 <http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm>