

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

**Validation de VTR élaborées
par la compagnie
pétrochimique de Berre dans
le cadre d'une évaluation
quantitative des risques
sanitaires liée à une pollution
de la nappe souterraine sur
la commune de Berre l'Étang**

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2015

Édition scientifique

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Validation de VTR élaborées
par la compagnie
pétrochimique de Berre dans
le cadre d'une évaluation
quantitative des risques
sanitaires liée à une pollution
de la nappe souterraine sur
la commune de Berre l'Etang

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2015

Édition scientifique

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 7 octobre 2015

AVIS du 4 mai 2015 révisé en juillet 2015
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à la validation de VTR élaborées par la compagnie pétrochimique de Berre dans le cadre d'une évaluation quantitative des risques sanitaires liée à une pollution de la nappe souterraine sur la commune de Berre l'Etang

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L. 1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 11 avril 2014 par Direction générale de la santé (DGS) afin d'évaluer la construction de valeurs toxicologiques de référence (VTR) élaborées dans le cadre d'une évaluation quantitative des risques sanitaires liée à une pollution de la nappe souterraine de la commune de Berre l'Etang (13130).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

En 2007, les riverains du quartier de la Molle de la commune de Berre l'Etang, ont adressé à la Direction régionale de l'aménagement, de l'environnement et du logement (DREAL) Provence-Alpes-Côte-d'Azur (PACA) une plainte pour nuisances olfactives liées aux eaux de leurs puits. Après investigation, il existe une pollution généralisée de la nappe souterraine par des pesticides. En outre, la nappe souterraine captée par les riverains est également polluée par des dérivés d'hydrocarbures qui ont pu être synthétisés dans l'unité de fabrication de solvants du pôle pétrochimique de Berre.

Dans le cadre de la cessation partielle de cette unité, l'Agence régionale de santé (ARS) et la DREAL ont demandé à l'exploitant d'évaluer les risques sanitaires induits pour les riverains par la présence de solvants dans les eaux souterraines. Cette évaluation intègre toutes les voies d'exposition (inhalation de vapeurs en intérieur et en extérieur, ingestion des produits du jardin, ingestion accidentelle d'eau souterraine). Or pour certaines substances, aucune VTR n'a été identifiée. Pour pallier cette absence de valeur, un bureau d'études a été chargé d'élaborer des VTR. Les substances concernées sont présentées dans le tableau ci-après.

Annule et remplace l'avis du 4 mai 2015, les modifications apportées sont résumées en annexe.

Substance	N°CAS
Tert-butanol (TBA)	75-65-0
Diisobutylène (DIB)	25167-70-8
Diisopropyl éther (DIPE)	108-20-3
4-vinylcyclohexène (4-VCH)	100-40-3
Sec-butyl Ether (s-BE)	6863-58-7
Acetate d'éthyle	141-78-9

La DGS a sollicité l'Anses pour :

1. produire un avis sur la validité de la construction de ces VTR et de leurs conditions d'utilisations et, le cas échéant,
2. construire des VTR pour les composés pour lesquels la VTR élaborée par le bureau d'études ne correspondrait pas à la méthodologie de l'Anses.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité(s) d'experts spécialisé(s) (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (appelé ci-après « CES Substances »).

En réponse à la première question de cette saisine, une analyse de la cohérence entre la méthode suivie par le bureau d'études et celle préconisée par l'Anses (Afsset, 2010) a été effectuée par l'Anses et des experts rapporteurs du CES « Substances ». Les travaux d'expertise ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 15 mai, 12 juin et 10 juillet 2014. Ils ont été adoptés par le CES « Substances » réuni le 10 juillet 2014.

En ce qui concerne la deuxième question de la saisine, les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 19 septembre 2014, 11 décembre 2014, 8 janvier 2015 et 12 février 2015. Ils ont été adoptés par le CES « Substances » à la séance du 12 février 2015.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

■ Analyse de la cohérence entre la méthode suivie par le bureau d'études et celle préconisée par l'Anses

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives s'appuyant sur le jugement d'experts (Anses, 2010).

L'Anses a publié des guides d'élaboration de VTR qui détaillent la méthode utilisée pour l'élaboration de VTR et recommandée pour toute construction de nouvelle valeur :

- « Valeurs toxicologiques de référence pour les substances reprotoxiques. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement » (Afsset, 2007),
- « Valeurs toxicologiques de référence pour les substances cancérigènes. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets cancérigènes » (Anses, 2010).

Le CES a ainsi confronté la construction des VTR par le bureau d'études avec les méthodes préconisées par l'Anses.

A la première question posée par la saisine, concernant la construction des VTR et leurs conditions d'utilisations, le CES considère que la démarche suivie par le bureau d'études est cohérente avec le référentiel qu'il a choisi (ECETOC, 2010), tant dans la démarche générale que dans l'application de la méthode, mais qu'elle conduit à des différences méthodologiques importantes par rapport aux recommandations de l'Anses. En conséquence, l'ensemble des VTR proposées n'a pas pu être validé en l'état par l'Anses.

■ Construction de VTR

Les VTR proposées par le bureau d'études n'ayant pas pu être validées, l'Anses a mandaté le CES « substances » pour proposer de nouvelles valeurs pour les substances d'intérêt.

Une analyse des données disponibles a été menée pour chacune des substances et voie d'exposition afin de préciser les études de qualité et d'évaluer les effets critiques et doses critiques utilisables pour l'élaboration des VTR.

De manière générale, l'analyse des données bibliographiques disponibles pour les substances concernées a mis en évidence le peu d'études actuellement disponibles pour chacune d'entre elles.

Pour certaines substances, lorsque les données le permettaient, il a été décidé de construire plusieurs VTR (données bibliographiques disponibles pour des effets chroniques, effets cancérigènes et/ou reprotoxiques).

Le CES rappelle que, concernant les effets sur le développement, il est généralement admis qu'une exposition unique peut suffire pour induire la survenue de l'effet si l'exposition survient lors d'une phase critique du développement embryon-fœtal. Ce type de VTR est applicable pour des durées d'exposition courtes (quelques heures à quelques jours). Par conséquent, la dose d'exposition est directement celle à retenir sans ajustement concernant la durée de l'exposition.

Les VTR construites par le CES « Substances » sont synthétisées sous la forme du tableau récapitulatif, intégrant :

- identification de la substance avec numéro CAS,
- type de VTR,
- voie d'exposition,
- choix de l'effet critique et de l'étude clé,
- les détails du calcul de la VTR (dose critique),
- les facteurs d'incertitudes appliqués,
- le résultat final, avec un niveau de confiance global qui est attribué à chaque VTR en prenant en compte les critères suivants en argumentant sur les forces et les faiblesses : nature et qualité des données, choix de l'effet critique et mode d'action, choix de l'étude clé, choix de la dose critique.

Avis de l'Anses
Saisine n° 2014-SA-0110

Substance (CAS)	Type de VTR	Voie d'exposition	Effet critique retenu	Dose critique	UF	VTR
Tert-butanol (TBA) (CAS 75-65-0)	VTR reprotoxique	Voie orale	Mort de rats nouveau-nés peu après leur naissance Rapport d'étude de Lyondell Chemical Compagny (2004) : étude de reprotoxicité chez des rats Sprague Dawley exposés 9 semaines	$BMD_{10\%L90\%} = 173 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Ajustement allométrique</u> $BMD_{10\%L90\% \text{ HED}} = 47,6 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	25 $UF_{A-TD} = 2,5$ $UF_H = 10$	VTR = 1,9 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Moyen/Fort
	VTR chroniques	Voie orale	Toxicité rénale chez le rat femelle F344	$LOAEL = 180 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Ajustement allométrique</u> $LOAEL_{\text{HED}} = 46 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	75 $UF_{A-TD} = 2,5$ $UF_H = 10$ $UF_L = 3$	VTR = 0,6 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Moyen/Fort
		Voie respiratoire	Rapport d'étude du NTP (1995) : étude de cancérogénicité	<u>Ajustement allométrique</u> $LOAEL_{\text{HED}} = 46 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Extrapolation voie à voie</u> $LOAEC_{\text{HED}} = 161 \text{ mg.m}^{-3}$	75 $UF_{A-TD} = 2,5$ $UF_H = 10$ $UF_L = 3$	VTR = 2,1 mg.m⁻³ Niveau de confiance : Faible
Diisobutylène (DIBE) (CAS 25167-70-8)	VTR chroniques	Voie orale	Toxicité hépatique et rénale (augmentation du poids relatif du foie et des reins)	$LOAEL = 1\ 000 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ $NOAEL = 300 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Ajustement allométrique</u> $NOAEL_{\text{HED}} = 61 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	75 $UF_A = 2,5$ $UF_H = 10$ $UF_S = 3$	VTR = 0,8 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Moyen/Faible
		Voie respiratoire	Huntingdon Life Science (1997a) : étude de toxicité répétée chez des rats Sprague Dawley	<u>Ajustement allométrique</u> $NOAEL_{\text{HED}} = 61 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Extrapolation voie à voie</u> $NOAEC_{\text{HED}} = 213,5 \text{ mg.m}^{-3}$	75 $UF_A = 2,5$ $UF_H = 10$ $UF_S = 3$	VTR = 3 mg.m⁻³ Niveau de confiance : Faible

Avis de l'Anses
Saisine n° 2014-SA-0110

<p>Diisopropyl éther (DIPE) (CAS 108-20-3)</p>	VTR chroniques	Voie respiratoire	<p>Toxicité hépatique</p> <p>Dalbey et Feuston 1996 : étude 13 semaines chez des rats Sprague Dawley</p>	<p>BMC_{5%} L_{95%} = 6052,7 mg.m⁻³</p> <p><u>Ajustement allométrique</u></p> <p>BMC_{5%} L_{95%} HEC = 6052,7 mg.m⁻³</p> <p><u>Ajustement temporel</u></p> <p>BMC_{5%} L_{95%} HEC ADJ = 1081,3 mg.m⁻³</p>	<p>75</p> <p>UF_A = 2,5</p> <p>UF_H = 10</p> <p>UF_S = 3</p>	<p>VTR = 14,5 mg.m⁻³</p> <p>Niveau de confiance : Moyen</p>
		Voie orale		<p><u>Extrapolation voie à voie</u></p> <p>BMD_{5%} L_{95%} HEDADJ = 308,9 mg.m⁻³</p>	<p>75</p> <p>UF_A = 2,5</p> <p>UF_H = 10</p> <p>UF_S = 3</p>	<p>VTR = 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p> <p>Niveau de confiance : Faible</p>
	VTR sur le développement	Voie respiratoire	<p>Augmentation du nombre de côtes rudimentaires</p> <p>Dalbey et Feuston 1996 : étude 13 semaines chez des rats Sprague Dawley</p>	<p>BMC_{5%} L_{95%} = 716,7 mg.m⁻³</p> <p><u>Ajustement allométrique</u></p> <p>BMC_{5%} L_{95%} HEC = 716,7 mg.m⁻³</p> <p><u>Ajustement temporel</u></p> <p>BMC_{5%} L_{95%} HED ADJ = 176 mg.m⁻³</p>	<p>25</p> <p>UF_A = 2,5</p> <p>UF_H = 10</p>	<p>VTR = 7,2 mg.m⁻³</p> <p>Niveau de confiance : Moyen</p>
		Voie orale		<p><u>Extrapolation voie à voie</u></p> <p>BMD_{5%} L_{95%} HED ADJ = 50,3 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p>	<p>25</p> <p>UF_A = 2,5</p> <p>UF_H = 10</p>	<p>VTR = 2 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p> <p>Niveau de confiance : Faible</p>
	VTR cancérogène	Voie orale	<p>Néoplasmes du système lymphoréticulaire (femelle)</p> <p>Belpoggi <i>et al.</i>, 2002 : étude de cancérogénèse chez le rat Sprague Dawley</p>	<p>A partir des données chez l'animal</p> <p>BMD_{10%} L_{95%} = 114 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement temporel</u></p> <p>BMD_{10%} L_{95%} ADJ = 49 mg.kg.pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement allométrique</u></p> <p>BMD_{10%} L_{95%} ADJ HED = 13 mg.kg p.c.⁻¹.j⁻¹</p>	<p>Après extrapolation linéaire à l'origine</p> <p>ERU = 7,8.10⁻⁶ (µg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹</p> <p>13 µg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴</p> <p>1,3 µg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵</p> <p>0,13 µg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶</p>	

Avis de l'Anses
Saisine n° 2014-SA-0110

						Niveau de confiance : Faible
		Voie respiratoire	Néoplasmes du système lymphoréticulaire (femelle) Belpoggi <i>et al.</i> , 2002 : étude de cancérogénèse chez le rat Sprague Dawley	A partir des données chez l'animal BMD _{10%} L _{95%} = 114 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement temporel</u> BMD _{10%} L _{95%} ADJ = 49 mg.kg.pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{10%} L _{95%} ADJ HED = 13 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{10%} L _{95%} ADJ HED = 45 mg.m ⁻³		Après extrapolation linéaire à l'origine ERU = 2,2.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹ 45 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁴ 4,5 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁵ 0,45 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁶ Niveau de confiance : Faible
4-vinylcyclohexène (4-VCH) (CAS 100-40-3)	VTR chronique	Voie respiratoire	Augmentation atrophie ovarienne Bevan <i>et al.</i> (1996) : étude 13 semaines chez la souris	LOAEC = 4500 mg.m ⁻³ NOAEC = 1125 mg.m ⁻³ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HED} = 1125 mg.m ⁻³ <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{HED ADJ} = 202 mg.m ⁻³	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 2,7 mg.m⁻³ Niveau de confiance : Moyen/fort
		Voie orale	Diminution du nombre de follicules ovariens Grizzle <i>et al.</i> (1994) : étude sur le développement sur deux générations chez des souris CD-1	LOAEL = 500 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> LOAEL _{HED} = 72 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	225 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _L = 3 UF _S = 3	VTR = 0,32 mg.kg.pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Moyen/fort
	VTR cancérogène	Voie orale	Tumeurs de cellules de la granulosa ovarienne et/ou carcinome ovariens NTP (1996) publié par Collins <i>et al.</i> , 1988 : Étude de cancérogénèse chez la souris B6C3F1	A partir des données chez l'animal BMD _{10%} L _{95%} = 73 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement temporel</u> BMD _{10%} L _{95%} ADJ = 52 mg.kg.pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{10%} L _{95%} ADJ HED = 7,5 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹		Après extrapolation linéaire à l'origine ERU = 1,3.10⁻⁵ (µg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹ 7,5 µg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁴ 0,75 µg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁵ 0,075 µg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶ Niveau de confiance : Moyen/Fort

Avis de l'Anses
Saisine n° 2014-SA-0110

	VTR cancérogène	Voie respiratoire	Tumeurs de cellules de la granulosa ovarienne et/ou carcinome ovariens NTP (1996) publié par Collins <i>et al.</i> , 1988 : Etude de cancérogénèse chez la souris B6C3F1	$BMD_{10\%L_{95\%ADJ HED}} = 7,5 \text{ mg.kg pc}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ <u>Extrapolation voie à voie</u> $BMC_{10\%L_{95\%ADJ HED}} = 26 \text{ mg.m}^{-3}$		Après extrapolation linéaire à l'origine $ERU = 3,8.10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$ $26 \mu\text{g.m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-4} $2,6 \mu\text{g.m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-5} $0,26 \mu\text{g.m}^{-3}$ pour un risque de 10^{-6} Niveau de confiance : Faible
Sec butyl éther (CAS 6863-58-7)	Pas de VTR par manque de données					
Acétate d'éthyle (CAS 141-78-9)	VTR chronique	Voie respiratoire	Effet sur la neurotoxicité (diminution de l'activité motrice femelle) Christoph <i>et al.</i> (2003) : étude 13 semaines chez le rat Sprague Dawley	$NOAEC = 750 \text{ ppm}$ <u>Ajustement allométrique</u> $NOAEC_{HED} = 750 \text{ ppm}$ <u>Ajustement temporel</u> $NOAEC_{HED ADJ} = 134 \text{ ppm}$	75 $UF_{A-TD} = 2,5$ $UF_H = 10$ $UF_S = 3$	VTR = $6,4 \text{ mg.m}^{-3}$ Niveau de confiance : Moyen/fort

Légende :

BMD/C	Benchmark dose/concentration
BMDxLy	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à y% de la benchmark dose associée à x%
ERU	Excès de Risque Unitaire
HED/C	Human Equivalent Dose/Concentration
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)
LOAEC	Lowest Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NOAEC	No Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
UF	Uncertainty factor (= facteur d'incertitude)
UF _A	Facteur d'incertitude inter-espèces
UF _{A-TD}	Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude inter-espèces
UF _H	Facteur d'incertitude interindividuel
UF _L	Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL
UF _S	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES « *Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence* » qui porte sur l'examen de la construction des VTR et de leurs conditions d'utilisations et sur la construction des VTR suivantes :

Substances (CAS)	Type de VTR	Valeur de la VTR
Tert-butanol (TBA) (CAS 75-65-0)	VTR reprotoxique (aigue) par voie orale	1,9 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
	VTR chronique par voie orale	0,6 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
	VTR chronique par voie respiratoire	2,1 mg.m⁻³
Diisobutylène (DIBE) (CAS 25167-70-8)	VTR chronique par voie orale	0,8 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
	VTR chronique par voie respiratoire	3 mg.m⁻³
Diisopropyl éther (DIPE) (CAS 108-20-3)	VTR chronique par voie orale	4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
	VTR chronique par voie respiratoire	14,5 mg.m⁻³
	VTR sur le développement (aigue) par voie orale	2 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
	VTR sur le développement (aigue) par voie respiratoire	7,2 mg.m⁻³
	VTR cancérogène par voie orale	7,8.10⁻⁶ (µg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹
	VTR cancérogène par voie respiratoire	2,2.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹
4-vinylcyclohexène (4-VCH) (CAS 100-40-3)	VTR chronique par voie orale	0,32 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
	VTR chronique par voie respiratoire	2,7 mg.m⁻³
	VTR cancérogène par voie orale	1,3.10⁻⁵ (µg.kg pc⁻¹.j⁻¹)⁻¹
	VTR cancérogène par voie respiratoire	3,8.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹
Sec butyl éther (S-BE) (CAS 6863-58-7)	absence de VTR (du fait du manque de données)	
Acétate d'éthyle (CAS 141-78-9)	VTR cancérogène par voie respiratoire	6,4 mg.m⁻³

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail recommande la mise en œuvre d'acquisition de données pour élaborer une VTR du sec-butyl éther.

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

VTR, valeur toxicologique de référence, Tert-butanol, Diisobutylène, Diisopropyl éther, 4-vinylcyclohexène, Sec butyl éther, Acétate d'éthyle.

ANNEXE

Modifications apportées à l'avis révisé :

1- **Diisopropyl éther (DIPE) (CAS 108-20-3)**

VTR cancérogène par voie orale, $ERU=7,8 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{pc}^{-1}\cdot\text{j}^{-1})^{-1}$

VTR cancérogène par voie respiratoire, $ERU=2,2 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3})^{-1}$

2- **4-vinylcyclohexène (4-VCH) (CAS 100-40-3)**

VTR cancérogène par voie orale, $ERU=1,3 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g}\cdot\text{kg}\cdot\text{pc}^{-1}\cdot\text{j}^{-1})^{-1}$

VTR cancérogène par voie respiratoire, $ERU=3,8 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3})^{-1}$

**Saisine relative à la validation de VTR élaborées par la
compagnie pétrochimique de Berre dans le cadre d'une
évaluation quantitative des risques sanitaires liée à une
pollution de la nappe souterraine sur la commune de
Berre l'Etang**

**Saisine « VTR Berre l'étang »
N°2014-SA-0110**

**RAPPORT révisé en juillet 2015
d'expertise collective**

**Comité d'experts spécialisé « Caractérisation des dangers des substances et
valeurs toxicologiques de référence »**

Février 2015

Annule et remplace le rapport de Février 2015, les modifications apportées sont résumées en annexe du rapport

Mots clés

VTR, Tert-butanol, Diisobutylène, Diisopropyl éther, 4-vinylcyclohexène, Sec-butyl Ether, Acétate d'éthyle

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEURS SUR LA PARTIE I

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Pharmacien toxicologue, toxicologie générale - VTR

M. François CLINARD – Epidémiologiste à l'Institut de Veille Sanitaire – Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 13 mars, 10 avril, 12 juin, 10 juillet, 19 septembre, 11 décembre 2014 et 8 janvier et 12 février 2015

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail à l'INRS – Médecine du travail, toxicologie, reprotoxicité

Membres

M. Marc BARIL - Professeur associé à l'Université de Montréal – Chimiste toxicologue, VLEP

M. Sylvain BILLET – Enseignant chercheur / maître de conférence en toxicologie à l'Université du Littoral Côte d'Opale – Toxicologie respiratoire, nanomatériaux

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Pharmacien toxicologue, toxicologie générale - VTR

Mme Anne CHEVALIER – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire

M. François CLINARD – Epidémiologiste à l'Institut de Veille Sanitaire – Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSi – Scientifique, Section des Monographies de IARC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à l'Institut de Veille sanitaire – Docteur es science en biochimie, toxicologie, VLEP

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Guillaume GARCON – Professeur de toxicologie à l'Université de Lille 2 – Toxicologie générale, cancérologie, modèles expérimentaux, toxicologie respiratoire, pollution atmosphérique

M. Ludovic LE HEGARAT – Chef d'unité adjoint Toxicologie des contaminants - Anses – Laboratoire de Fougères- Toxicologie, génotoxicité, nanomatériaux

M. Karim MAGHNI – Professeur sous octroi agrégé à l'Université de Montréal – Toxicologie, immunologie, asthme, allergies, nanomatériaux

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives, Centre de Marcoule. – Toxicologie « in vitro », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue au Service de santé des armées

M. Jean-Paul PAYAN – Chef du laboratoire Pénétration Cutanée, Cinétique et Métabolisme à l'INRS, Nancy – Pharmacien toxicologue, toxicocinétique

Mme Marie-Anne ROBIN – Directeur de recherche à l'INSERM – Pharmacien toxicologue, biochimie, hépatotoxicité, perturbateurs endocriniens

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste, neurotoxicité

M. Alain SIMONNARD – Chef de département à l'INRS, Nancy - Pharmacien toxicologue, toxicologie générale et reprotoxicité, anatomopathologie

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève – Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

Mme Lydie SPARFEL – Professeur à l'Université de Rennes 1 / IRSET 'Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail' UMR INSERM 1085– Pharmacien Toxicologue, immunotoxicologie, toxicogénomique, cancérologie, biologie cellulaire et moléculaire

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS – Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

M Laurent BODIN – Chef de projets scientifiques – Anses

Mme Aurélie MATHIEU-HUART - Chef de projets scientifiques – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	10
Liste des tableaux	11
Liste des figures	12
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	13
1.1 Contexte.....	13
1.2 Objet de la saisine.....	13
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	14
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.	14
Partie I – Evaluation de la construction des VTR du BE au regard de la méthode préconisée par l'ANSES	15
2 Description de la méthode pour l'analyse des VTR construites par le BE.	17
3 Commentaires généraux sur la construction des VTR par le BE.....	18
4 Commentaires spécifiques sur la construction des VTR par le BE	21
4.1 Tert-Butanol (TBA), voie respiratoire.....	22
4.2 Tert-Butanol (TBA), voie orale.....	23
4.3 Diisobutylène (DIB), voie respiratoire.....	25
4.4 Diisobutylène (DIB), voie orale.....	26
4.5 Diisopropyl éther (DIPE), voie respiratoire.....	27
4.6 Diisopropyl éther (DIPE), voie orale.....	28
4.7 4-vinylcyclohexène (4VCH), voie respiratoire	29
4.8 4-vinylcyclohexène (4VCH), voie orale	30
4.9 Sec-butyl Ether (s-BE)	31
4.10 Acétate d'éthyle, voie respiratoire	32
5 Conclusions du CES sur la construction des VTR par le bureau d'études.	33
6 Conclusions de l'expertise collective partie I.....	35
Partie II - Construction de valeurs toxicologiques de références par l'ANSES	36

1	Construction de VTR par l'ANSES	37
2	VTR du Tert-Butanol	38
2.1	VTR pour la voie orale	38
2.1.1	Choix de l'effet critique et de l'étude clé	38
2.1.1.1	Etudes subchroniques	38
2.1.1.2	Etudes chroniques et de cancérogénèse	39
2.1.1.3	Etudes de génotoxicité	40
2.1.1.4	Etudes sur la reproduction et le développement	41
2.1.2	VTR basée sur les effets reprotoxiques	43
2.1.2.1	Choix de la dose critique	43
2.1.2.2	Calcul de la dose critique	43
2.1.2.3	Ajustement allométrique	44
2.1.2.4	Choix des facteurs d'incertitude	45
2.1.3	VTR chronique	46
2.1.3.1	Choix de la dose critique	46
2.1.3.2	Ajustement allométrique	46
2.1.3.3	Choix des facteurs d'incertitude	47
2.2	VTR pour la voie respiratoire	48
2.2.1	Choix de l'effet critique et de l'étude clé	48
2.2.1.1	Etudes subchroniques	48
2.2.1.2	Etudes sur la reproduction et le développement	48
2.2.2	VTR chronique	50
2.2.2.1	Choix de la dose critique et calcul de la VTR	50
2.3	Conclusion pour le Tert-Butanol	50
3	VTR du Diisobutylène (DIBE)	52
3.1	VTR pour la voie orale	52
3.1.1	Choix de l'effet critique et de l'étude clé	52
3.1.1.1	Etude subchronique	52
3.1.1.2	Etudes sur la reproduction et le développement	53
3.1.2	VTR chronique	53
3.1.2.1	Choix de la dose critique	53
3.1.2.2	Ajustement allométrique	53
3.1.2.3	Choix des facteurs d'incertitude	54
3.2	VTR pour la voie respiratoire	55
3.2.1	VTR chronique	55
3.2.1.1	Choix de la dose critique et calcul de la VTR	55
3.3	Conclusion pour le Diisobutylène	56
4	VTR du Diisopropyl éther (DIPE)	57

4.1	Choix de l'effet critique et de l'étude clé	57
4.1.1	Exposition par voie orale.....	57
4.1.1.1	Etude chronique	57
4.1.2	Exposition par voie respiratoire	58
4.1.2.1	Etude subchronique	58
4.1.2.2	Etude sur la reproduction et le développement	58
4.2	VTR chronique.....	59
4.2.1	VTR chronique pour la voie respiratoire	59
4.2.1.1	Choix de la dose critique	59
4.2.1.2	Ajustements.....	61
4.2.1.3	Choix des facteurs d'incertitude	61
4.2.2	VTR chronique pour la voie orale	62
4.3	VTR basée sur les effets sur le développement.....	63
4.3.1	VTR pour la voie respiratoire	63
4.3.1.1	Choix de la dose critique	63
4.3.1.2	Calcul de la dose critique	65
4.3.1.3	Ajustements.....	66
4.3.1.4	Choix des facteurs d'incertitude	67
4.3.2	VTR pour la voie orale	68
4.4	VTR cancérigène.....	69
4.4.1	VTR cancérigène pour la voie orale	69
4.4.1.1	Choix de la dose critique	69
4.4.1.2	Calcul de la dose critique	69
4.4.1.3	Ajustements.....	70
4.4.1.4	Construction de la VTR sans seuil	71
4.4.2	VTR cancérigène pour la voie respiratoire	72
4.5	Conclusion.....	72
5	VTR du 4-vinylcyclohexène (4-VCH)	73
5.1	Choix de l'effet critique et de l'étude clé	73
5.1.1	Exposition par voie orale.....	73
5.1.1.1	Etudes subchroniques.....	73
5.1.1.2	Etudes de génotoxicité	73
5.1.1.3	Etudes de cancérogénèse.....	76
5.1.1.4	Etudes sur la reproduction et le développement	76
5.1.2	Exposition par voie respiratoire	77
5.1.2.1	Etudes subchroniques.....	77
5.1.3	Exposition par voie intrapéritonéale.....	77
5.2	VTR chronique à seuil.....	78
5.2.1	VTR chronique pour la voie respiratoire	78
5.2.1.1	Choix de la dose critique	78
5.2.1.2	Ajustements.....	79

5.2.1.3	Choix des facteurs d'incertitude	79
5.2.2	VTR chronique pour la voie orale	80
5.2.2.1	Choix de l'effet critique	80
5.2.2.2	Ajustement allométrique.....	81
5.2.2.3	Choix des facteurs d'incertitude	81
5.3	VTR cancérogènes	82
5.3.1	VTR cancérogène pour la voie orale	83
5.3.1.1	Choix de la dose critique	83
5.3.1.2	Ajustements.....	84
5.3.1.3	Calcul de la VTR	84
5.3.2	VTR cancérogène pour la voie respiratoire	85
5.4	Conclusion.....	86
6	VTR du Sec-butyl Ether.....	87
7	VTR de l'acétate d'éthyle pour la voie respiratoire.....	88
7.1	Choix de l'effet critique et de l'étude clé	88
7.1.1.1	Etudes subchroniques.....	88
7.2	Choix de la dose critique	88
7.3	Ajustements.....	89
7.4	Choix des facteurs d'incertitude	89
8	Conclusions	91
9	Bibliographie.....	98
ANNEXES		101
Annexe 1 : Lettre de saisine.....	Erreur ! Signet non défini.	
Notes.....		103

Sigles et abréviations

4-VCH	4-vinylcyclohexène
4-VCD	4 vinyl-cyclohexène diépoxyde
ARS	Agence Régionale de Santé
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BE	Bureau d'études
BMD/C	Benchmark dose/concentration
BMDxLy	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à y% de la benchmark concentration associée à x%
BMR	Benchmark response
BPL	Bonnes Pratiques de Laboratoire
CES	Comité d'experts spécialisés
CIRC	Centre International de Recherche pour le Cancer (= IARC :)
DIB	Diisobutylène
DIPE	Diisopropyl éther
DGS	Direction générale de la santé
Dréal	Direction régionale de l'aménagement, de l'environnement et du logement
ECHA	European Chemicals Agency
GD	Gestation Day (= jour de gestation)
HEC	Human Equivalent Concentration (= concentration équivalente humaine)
PISSC	Programme international sur la sécurité des substances chimiques (PISSC)
LOAEL observé)	Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)
LOAEC	Lowest Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NOAEC	No Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NTP	National Toxicology Program
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
PB/PK	Pharmacocinétique/Pharmacodynamique
RAC	Committee for risk assessment
RAR	Risk Assessment Report
s-BE	Sec-butyl Ether
TBA	Tert-butanol
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
UF	Uncertainty factor (= facteur d'incertitude)
UFA	Facteur d'incertitude inter-espèces
UFD	Facteur d'incertitude au manque de données
UFH	Facteur d'incertitude interindividuel
UFH-TK	Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel
UFL	Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD
UFS	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
US EPA	United States Environmental Protection Agency
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identifications des substances d'intérêt.....	13
Tableau 2 : Différences entre les facteurs d'incertitudes intra- et inter-espèces appliqués par le BE et l'Anses	19
Tableau 3 : VTR élaborées par le BE.....	21
Tableau 4 : Tert Butanol (TBA) - VTR par inhalation élaborée par le BE	22
Tableau 5 : Tert Butanol (TBA) - VTR par voie orale élaborée par le BE	23
Tableau 6 : Diisobutylène (DIB) - VTR par inhalation élaborée par le BE	25
Tableau 7 : Diisobutylène (DIB) - VTR par voie orale élaborée par le BE	26
Tableau 8 : Diisopropyl éther (DIPE) - VTR par inhalation élaborée par le BE.....	27
Tableau 9 : VTR par voie orale pour le DIPE élaborée par le BE	28
Tableau 10 : 4-vinylcyclohexène (4VCH) - VTR par inhalation élaborée par le BE.....	29
Tableau 11 : 4-vinylcyclohexène (4VCH) - VTR par voie orale élaborée par le BE.....	30
Tableau 12 : Sec-butyl ether (s-BE) - VTR par voie orale élaborée par le BE.....	31
Tableau 13 : Acétate d'éthyl - VTR par inhalation pour l'acétate d'éthyle élaborée par le BE.....	32
Tableau 14 : substances et les voies d'expositions pour lesquelles le choix de la démarche est en cohérence avec le référentiel ECETOC.....	34
Tableau 15 : substances et les voies d'exposition pour lesquelles une analyse plus complète des données est nécessaire.....	34
Tableau 16 : Effets observés sur le rein chez les rats femelles F344 exposées au TBA pendant deux ans (NTP, 1995).....	39
Tableau 17 : Résumé des tests de génotoxicité sur le TBA (extrait de McGregor, 2010).....	41
Tableau 18 : Effets observés chez la génération F1 (extrait du rapport de Lyondell Chemical Compagny, 2004).....	42
Tableau 19 : VTR basée sur les effets reprotoxiques pour la voie orale du tert-butanol.....	45
Tableau 20 : VTR chronique pour la voie orale du tert-butanol.....	47
Tableau 21 : Résumé des effets sur le développement observés après exposition au TBA (Nelson <i>et al.</i> , 1989).....	49
Tableau 22 : VTR chronique pour la voie respiratoire du tert-butanol	50
Tableau 23 : VTR chronique pour la voie orale du diisobutylène.....	54
Tableau 24 : VTR chronique pour la voie respiratoire du diisobutylène.....	55
Tableau 25 : Synthèse des effets cancérogènes du DIPE administré par gavage (Belpoggi <i>et al.</i> , 2002)	57
Tableau 26 : Résumé des effets sur le foie et les reins observés après exposition au DIPE (Dalbey et Fueston, 1996).....	58
Tableau 27 : VTR chronique par voie respiratoire pour le diisopropyl éther	62
Tableau 26 : VTR par voie orale pour le diisopropyl éther	63
Tableau 29 : Relation entre la concentration d'exposition et l'augmentation nombre de cotes rudimentaires chez les fœtus et les portées Dalbey et Fueston (1996)	63
Tableau 30 : VTR reprotoxique par voie respiratoire pour le diisopropyl éther.....	67
Tableau 31 : VTR reprotoxique par voie orale pour le diisopropyl éther.....	68

Tableau 32 : Relation entre la dose d'exposition et le nombre d'animaux atteints de néoplasmes du système lymphoreticulaire	69
Tableau 33 : VTR cancérogène par voie orale du DIPE	71
Tableau 34 : VTR cancérogène par voie respiratoire du DIPE	72
Tableau 35 : Résumé des études de génotoxité (<i>in vitro</i> , <i>in vivo</i>) pour le 4-VCH (RAC, 2012)	74
Tableau 36 : Relation entre concentrations en 4-VCH et atrophie ovarienne chez la souris.....	78
Tableau 37 : VTR chronique par voie respiratoire pour le 4-VCH.....	80
Tableau 38 : Diminution du nombre de follicules ovariens chez des souris CD-1 lors d'une exposition pendant 14 semaines au 4-VCH (Grizzle et al., 1994)	80
Tableau 39 : VTR chronique par voie orale pour le 4-vinylcyclohexène	82
Tableau 40 : Résumé de l'augmentation de tumeur ovarienne chez les femelles.....	83
Tableau 39 : VTR cancérogène par voie orale pour le 4-VCH.....	84
Tableau 40 : VTR cancérogène par voie respiratoire pour le 4-VCH.....	85
Tableau 41 : VTR par voie respiratoire pour l'acétate d'éthyle	90
Tableau 44 : Tableau de synthèse des VTR élaborées	92

Liste des figures

Figure 1 : Modélisation de la diminution du nombre de nouveaux nés vivants à la naissance en fonction de la dose d'exposition de la mère	44
Figure 2 : Modélisation de l'augmentation du poids du foie chez les femelles d'après l'étude de Dalbey et Fueston (1996).....	60
Figure 3 : Courbe concentration réponse à partir de l'étude Dalbey et Feuston (1996)	66
Figure 4 : Courbe dose réponse obtenue à partir de l'étude de Belpoggi <i>et al.</i> (1988)	70
Figure 5 : Relation entre l'augmentation tumeur et la dose journalière d'exposition au 4-VCH.....	83

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

En 2007, les riverains du quartier de la Molle de la commune de Berre l'Etang, ont adressé à la Direction régionale de l'aménagement, de l'environnement et du logement (Dréal) Provence-Alpes-Côte-d'Azur (Paca) une plainte pour nuisances olfactives liées aux eaux de leurs puits. Les investigations ont mis en évidence une pollution généralisée de la nappe souterraine par des pesticides. La nappe souterraine captée par les riverains est également polluée par des dérivés d'hydrocarbures qui ont pu être synthétisés dans l'unité de fabrication de solvants du pôle pétrochimique de Berre.

Dans le cadre de la cessation partielle de cette unité, l'Agence régionale de santé (ARS) et la Dréal ont demandé à l'exploitant d'évaluer les risques sanitaires induits pour les riverains par la présence de solvants dans les eaux souterraines. Cette évaluation intègre toutes les voies d'exposition (inhalation de vapeurs dans l'air intérieur et extérieur, ingestion de produits du jardin, ingestion accidentelle d'eau d'origine souterraine). Or pour certaines substances, aucune valeur toxicologique de référence (VTR) n'a été identifiée. Pour pallier cette absence de valeur, le bureau d'études (BE) mandaté par l'exploitant, a proposé pour ces substances des VTR qu'il a lui-même construites. Les substances concernées sont présentées dans le tableau ci-après.

Tableau 1 : Identifications des substances d'intérêt

Substance	N°CAS
Tert-butanol (TBA)	75-65-0
Diisobutylène (DIB)	25167-70-8
Diisopropyl éther (DIPE)	108-20-3
4-vinylcyclohexène (4-VCH)	100-40-3
Sec-butyl Ether (s-BE)	6863-58-7
Acétate d'éthyle	141-78-9

1.2 Objet de la saisine

L'Anses a été saisie le 5 mai 2014 par la Direction générale de la santé (DGS) afin d'évaluer la construction des valeurs toxicologiques de référence (VTR) élaborées par le bureau d'études (BE) pour la compagnie pétrochimique de Berre. Ces valeurs de référence avaient été produites dans le cadre d'une évaluation quantitative des risques sanitaires liée à une pollution de la nappe souterraine sur la commune de Berre l'Etang.

La DGS a sollicité l'Anses pour produire dans un délai de deux mois un avis sur la validité de la construction de ces VTR et de leurs conditions d'utilisation, et, le cas échéant, pour construire dans un délai de six mois des VTR pour les composés pour lesquels la VTR élaborée par le BE ne correspondrait pas à la méthodologie de l'Anses (annexe 1).

Ce rapport comprend deux parties qui répondent aux deux questions posées par la DGS :

- Partie I – Evaluation de la construction des VTR du BE au regard de la méthode préconisée par l'ANSES,
- Partie II - Construction de valeurs toxicologiques de références par l'ANSES.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (CES Substances) l'instruction de cette saisine.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

Partie I – Evaluation de la construction des VTR du BE au regard de la méthode préconisée par l'ANSES

Ces travaux d'expertise concernant la partie I ont été présentés au CES « Substances » les 15 mai et 12 juin 2014 et ont été approuvés lors de la séance du 10 juillet 2014.



2 Description de la méthode pour l'analyse des VTR construites par le BE

Méthode suivie pour l'analyse critique

Le CES « Substances » s'est attaché à évaluer les différences existantes entre la méthode suivie par le BE et celle recommandée par l'Anses.

Une analyse de la construction des VTR établies par le BE a été réalisée substance par substance et par voie d'exposition.

De plus, une recherche bibliographique a été réalisée pour chaque substance afin d'évaluer les données disponibles et leur prise en compte par le BE.

Pour rappel, la méthode recommandée par l'Anses pour l'élaboration d'une VTR ¹est la suivante :

1. analyse de données disponibles,
2. choix de l'effet critique,
3. identification de l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance,
4. choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant d'établir une relation dose-réponse,
5. choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques; éventuellement, dans le cas d'une dose critique obtenue sur l'animal, ajustement de cette dose à l'Homme,
6. application de facteurs d'incertitude (UF) à la dose critique pour tenir compte des incertitudes pour les VTR à seuil ou extrapolation linéaire à l'origine à partir de la dose critique pour les VTR sans seuil.

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives s'appuyant sur le jugement d'experts (Anses, 2010).

¹ L'Anses a publié des guides d'élaboration de VTR qui détaillent la méthode utilisée par l'Agence et recommandée pour toute construction de nouvelle valeur : « Valeurs toxicologiques de référence pour les substances reprotoxiques. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement » (Anses, 2007) ; « Valeurs toxicologiques de référence pour les substances cancérigènes. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets cancérigènes » (Anses, 2010).

3 Commentaires généraux sur la construction des VTR par le BE

La démarche du BE pour construire les VTR suit les recommandations du Centre d'écologie et de toxicologie de l'industrie chimique européenne (ECETOC). Elle inclut :

1. une recherche bibliographique afin d'établir un profil toxicologique et d'identifier l'effet critique,
2. la détermination d'une dose ou concentration critique,
3. l'application de facteurs d'incertitude.

La méthodologie utilisée est similaire à la méthode de construction des VTR recommandée par l'Anses (points 1 et 2), mais elle diffère sur le choix des facteurs d'incertitude/ de sécurité (UF). En effet, le BE a suivi les recommandations d'ECETOC (2010) pour les différents facteurs d'incertitude et non celles proposées par l'Anses ou l'ECHA, notamment pour la prise en compte des différences inter-espèces et interindividuelles (Tableau 2).

Tableau 2 : Différences entre les facteurs d'incertitudes intra- et inter-espèces appliqués par le BE et l'Anses

Points critiques		Facteurs d'incertitude utilisés par le BE	Facteurs d'incertitude proposés par l'Anses	Conclusions du CES
Voie orale				
UF _A ou différences inter-espèces	composante toxicocinétique	4 (rat) 7 (souris)	Ajustement allométrique	Non conforme aux recommandations de l'Anses
	composante toxicodynamique		2,5	
UF _H ou différences intra-espèces		5	10	
Voie respiratoire				
UF _A ou différences inter-espèces	composante toxicocinétique	4 (rat) 7 (souris)	Ajustement dosimétrique	Non conforme aux recommandations de l'Anses ²
	composante toxicodynamique		1 à 2,5	
UF _H ou différences intra-espèces		5	10	

UF : facteurs d'incertitude

De plus, concernant les effets sur le développement, il est généralement admis qu'une exposition unique peut suffire pour induire la survenue de l'effet si l'exposition survient lors d'une phase critique du développement embryo-fœtal. Par conséquent, la dose d'exposition est directement celle à retenir sans ajustement concernant la durée de l'exposition.

Certaines références citées par le BE sont obsolètes, notamment pour les guides méthodologiques. Ainsi, le document cité par le BE pour le choix des facteurs d'incertitude peut être remplacé par le document suivant: "Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.8: Characterisation of dose [concentration]-response for human health. European Chemicals Agency" (ECHA, 2012).

Le CES a également noté des références bibliographiques non prises en compte par le BE pour la construction de VTR pour certaines substances et propose de mettre à jour certaines références citées et de compléter la bibliographie.

² Même si les UF utilisés par le bureau d'étude sont plus pénalisants que ceux recommandés par l'Anses.

Enfin, en l'absence de donnée, le BE a suivi des approches alternatives (« Read-across », pour établir ses VTR. Ces approches n'ont pas été évaluées par l'Anses pour la construction de VTR. Des compléments méthodologiques auraient été nécessaires pour justifier leur utilisation.

Le « read-across » ou Méthode des références croisées ou « read-across approach » est une méthode qui permet de prédire la toxicité d'une substance à partir des caractéristiques de substances connues présentant des similitudes de structure ou d'action toxique.

4 Commentaires spécifiques sur la construction des VTR par le BE

Les VTR élaborées par le BE sont résumées dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 3 : VTR élaborées par le BE

Substances	VTR inhalation Concentration Admissible (CA)	VTR orale Dose Journalière Admissible (DJA)
Tert-butanol (TBA)	0,54 ppm (1,64 mg.m ⁻³) Facteur d'incertitude global = 1 080	3,3 mg.kg⁻¹.j⁻¹ Facteur d'incertitude global = 120
Diisobutylène (DIB)	0,18 ppm (0,83 mg.m ⁻³) Facteur d'incertitude global = 4 320	8,3 mg.kg⁻¹.j⁻¹ Facteur d'incertitude global = 120
Diisopropyl éther (DIPE)	0,24 ppm (0,99 mg.m ⁻³) Facteur d'incertitude global = 360	12,5 mg.kg⁻¹.j⁻¹ Facteur d'incertitude global = 360
4-vinylcyclohexène (4-VCH)	0,07 ppm (0,31 mg.m ⁻³) Facteur d'incertitude globale = 630	1,2 mg.kg⁻¹.j⁻¹ Facteur d'incertitude global = 210
Sec-butyl Ether (s-BE)	VTR du DIPE	14,8 mg.kg⁻¹.j⁻¹ Facteur d'incertitude global = 120
Acétate d'éthyle	0,17 ppm (0,63 mg.m ⁻³) Facteur d'incertitude global = 360	/

4.1 Tert-Butanol (TBA), voie respiratoire

Tableau 4 : Tert Butanol (TBA) - VTR par inhalation élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
<p>Toxicité sur la reproduction et le développement (altération de l'activité locomotrice chez les mères et diminution du poids corporel des fœtus) chez des rats Sprague-Dawley gestantes exposées par inhalation de GD1 à 19</p> <p>US EPA (2013)</p>	<p>LOAEC = 2 000 ppm (6,06 mg.L⁻¹)</p> <p><u>Ajustement temporel</u> LOAEC_{ADJ} = 583 ppm (2 000 x 7/24)</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> LOAEC_{ADJ HEC} = 583 ppm (583 ppm x1*)</p>	<p>1 080</p> <p>UF_A = 4 (rat) UF_H = 5 (population générale) UF_S = 6 (subaiguë à chronique) UF_L = 3 (par défaut) UF_D = 3</p>	<p>1,64 mg.m⁻³ (0,54 ppm)</p>

* facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de données

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique

Le BE a choisi comme effet critique la toxicité sur la reproduction et le développement. L'effet retenu est une altération de l'activité locomotrice chez les rates exposées ainsi qu'une diminution du poids des fœtus à la naissance. L'effet retenu est retrouvé dans d'autres études, notamment celles du National Toxicology Program (NTP, 1997) et Nelson *et al.* (1989 et 1991).

b- Choix de l'étude clé

L'étude sélectionnée correspond à une étude de toxicité sur la reproduction et le développement (citée dans Chem view de l'US EPA³). Le CES n'a pas été en mesure d'évaluer la qualité scientifique de cette étude dont le rapport complet n'est pas accessible. Le CES note qu'il existe pour ce composé et pour cette voie des études de toxicité subchronique et chronique notamment celles du NTP (NTP, 1997) et de Nelson *et al.* (1989, 1991).

c- Choix de la dose critique

Une analyse des concentrations critiques (LOAEC, NOAEC) proposées dans le rapport de l'US EPA intitulé "Preliminary Materials for the IRIS Toxicological Review of tert-Butanol" a permis de comparer la dose critique choisie par le BE à l'ensemble des couples NOAEC / LOAEC

³ <http://java.epa.gov/chemview/>

retrouvés dans la littérature⁴. Il ne semble pas y avoir d'études publiées montrant des effets sur la reproduction et le développement pour des LOAEC inférieures à celle choisie par le BE.

d- Choix des facteurs d'incertitude

Les facteurs d'incertitude utilisés par le BE ne sont pas conformes à ceux recommandés par l'Anses.

Pour un effet critique portant sur la toxicité sur le développement, les experts rappellent que la VTR construite est alors applicable sur une durée d'exposition court terme (de quelques heures à une semaine). Selon les recommandations de l'Anses, aucun facteur d'incertitude pour la durée d'exposition n'aurait dû être appliqué.

Le CES « substances » estime qu'il existe pour cette substance et cette voie d'exposition une divergence méthodologique majeure qui ne lui permet pas de valider la VTR proposée par le BE.

4.2 Tert-Butanol (TBA), voie orale

Tableau 5 : Tert Butanol (TBA) - VTR par voie orale élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
Toxicité sur la reproduction et le développement (importante mortalité périnatale à PND4 aboutissant à une réduction de 30% de la taille de la portée) chez des rats exposés par voie orale US EPA (2013)	LOAEL = 1 000 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ NOAEL = 400 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	120 UF _A = 4 (rat) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 2 (subchronique à chronique) UF _{dose-réponse} = 3 (par défaut) UF _{confiance étude} = 1	3,3 mg.kg⁻¹.j⁻¹

* facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique

Comme pour la voie respiratoire, le BE a choisi comme effet critique la toxicité sur la reproduction et le développement. L'effet retenu est une diminution de la taille de la portée ainsi qu'une diminution du poids des fœtus à la naissance. Cet effet est retrouvé dans d'autres études, notamment celles du NTP (NTP, 1997).

⁴ US EPA (2013) Preliminary Materials for the IRIS Toxicological Review of tert-Butanol. Disponible sur www.epa.gov/iris

Concernant la toxicité rénale induite par le TBA⁵, le CES rejoint l'avis du BE pour considérer que le mode d'action est spécifique à l'animal et non transposable à l'Homme (Anses 2010).

b- Choix de l'étude clé

L'étude sélectionnée correspond à une étude de reproduction et de développement (étude sur 1 génération) citée dans Chem view (US EPA⁶). Les experts du CES n'ont pas été en mesure d'évaluer la qualité scientifique de cette étude dont seul un résumé est accessible. Comme pour la voie respiratoire, le CES note qu'il existe des études de toxicité subchronique, chronique et de cancérogenèse (NTP, 1995 et 1997).

c- Choix de la dose critique

Une analyse des doses critiques (LOAEL, NOAEL) proposées dans le rapport de l'US EPA intitulé "Preliminary Materials for the IRIS Toxicological Review of tert-Butanol"⁷ a permis de comparer la dose critique choisie par le BE à l'ensemble des couples NOAEL / LOAEL retrouvés dans la littérature. Il ne semble pas y avoir d'étude montrant des effets sur la reproduction et le développement pour des NOAEL inférieures à celle choisie par le BE.

d- Choix des facteurs d'incertitude

Les facteurs d'incertitude utilisés par le BE ne sont pas conformes à ceux recommandés par l'Anses.

Les experts rappellent que les VTR construites sur un effet critique portant sur la toxicité du développement, ne sont applicables que sur une durée d'exposition aiguë (de quelques heures à une semaine). De plus, selon les recommandations de l'Anses, aucun facteur d'incertitude pour la durée d'exposition n'aurait dû être appliqué.

Le CES « substances » estime qu'il existe pour cette substance et cette voie d'exposition une divergence méthodologique majeure qui ne lui permet pas de valider la VTR proposée.

⁵ Prolifération cellulaire prolongée par la promotion de cellules initiées chez le rat mâle (cytotoxicité liée à l'accumulation de gouttelettes hyalines contenant l'alpha-2-globuline).

⁶ <http://java.epa.gov/chemview#>

⁷ US EPA (2013) Preliminary Materials for the IRIS Toxicological Review of tert-Butanol. Disponible sur www.epa.gov/iris

4.3 Diisobutylène (DIB), voie respiratoire

Tableau 6 : Diisobutylène (DIB) - VTR par inhalation élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF**	VTR
Décès de rates Wistar exposées 5 jours par inhalation à un mélange d'oléfinés C8* Bayer AG, 1972 (non publiée, citée dans ECHA, 2011)	CL ₅₀ = 6 540 ppm <u>Ajustement temporel</u> CL _{50 ADJ} = 779 ppm (6 540 x 4/24 x 5/7) <u>Ajustement allométrique</u> CL _{50 ADJ HEC} = 779 ppm (779 ppm x 1*)	4 320 UF _A = 4 (rat) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 6 (subaiguë à chronique) UF _L = 6 (utilisation LC ₅₀) UF _D = 6 (1 seule étude)	0,83 mg. m⁻³ (0,18 ppm)

* environ 75% de 2,4,4-triméthyl-1-ène, 15% de 2,4,4-triméthylpent-2-ène

** facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

Choix de l'effet critique

Le comité d'experts estime que l'effet critique (mort des animaux) et la dose critique (dose létale 50% ou concentration létale 50%) choisis ne peuvent pas être utilisés pour établir une VTR (aiguë ou chronique). Le CES considère qu'une VTR dérivée à partir d'une CL₅₀ n'est pas suffisamment protectrice.

Le CES « substances » estime qu'il existe pour cette substance et cette voie d'exposition une divergence méthodologique majeure qui ne lui permet pas de valider la VTR proposée⁸.

⁸ Concernant le choix de l'étude, de la dose critique et des facteurs de sécurité, le CES n'a pas jugé utile de faire des commentaires considérant que le choix de l'effet (mortalité) effectué invalidait la proposition de VTR.

4.4 Diisobutylène (DIB), voie orale

Tableau 7 : Diisobutylène (DIB) - VTR par voie orale élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF**	VTR
Toxicité sur la reproduction et le développement chez des rats CD exposés par voie orale du pré-accouplement jusqu'au jour 4 de lactation* Huntingdon Life Sciences, 1997b	NOAEL = 1 000 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	120 UF _A = 4 (rat) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 2 (subchronique à chronique) UF _L = 3 (par défaut) UF _D = 1	8,3 mg.kg⁻¹.j⁻¹

* Aucun effet néfaste sur les capacités reproductrices, la viabilité péri- et post-natale et le rendement reproducteur de la nouvelle génération

** facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique

Le BE a choisi comme effet critique la toxicité sur la reproduction et le développement. Les auteurs de cette étude indiquent que le DIB n'entraînerait aucun effet néfaste sur la reproduction et le développement.

Le comité d'experts note que dans son *Risk Assessment Report* de l'Union européenne (RAR, 2008), l'Union européenne a considéré comme effet critique la toxicité hépatique en se basant sur l'étude de Huntingdon Life Science (1997a).

b- Choix de l'étude clé

L'étude sélectionnée correspond à une étude de toxicité sur la reproduction et le développement réalisée sur financement d'une firme industrielle et non publiée. Les experts du CES n'ont pas été en mesure d'évaluer la qualité scientifique de cette étude car elle n'est pas disponible (Huntingdon Life Science, 1997b). Le CES « substances » note qu'il n'existe que deux études pour ce composé, toutes deux réalisées par Huntingdon Life Science (1997a, b).

c- Choix de la dose critique

Il n'est pas possible de réaliser de comparaison avec des doses critiques (LOAEL, NOAEL) pour l'effet critique retenu par le BE. Cependant, le Comité d'experts note que l'ECHA avait choisi un NOAEL de 300 mg.kg⁻¹.j⁻¹ basé sur des effets hépatiques (RAR, 2008).

d- Choix des facteurs d'incertitude

Les facteurs d'incertitude utilisés par le BE ne sont pas conformes à ceux recommandés par l'Anses.

Le CES « substances » n'a pas eu accès à l'étude clé utilisée. L'approche suivie par le BE ne peut être approuvée en l'état. Une analyse approfondie des données bibliographiques sera réalisée dans un second temps, notamment l'analyse des deux études de Huntingdon Life Science, 1997a, b, pour justifier le choix de l'effet et de l'étude.

4.5 Diisopropyl éther (DIPE), voie respiratoire

Tableau 8 : Diisopropyl éther (DIPE) - VTR par inhalation élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
Augmentation du poids du foie et des reins chez des rats Sprague-Dawley exposés 13 semaines par inhalation Dalbey et Fueston, 1996	NOAEC = 480 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 86 ppm (480 x 6/24 x 5/7) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 86 ppm (86 ppm x 1*)	360 UF _A = 4 (rat) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 2 (subchronique à chronique) UF _L = 6 (par défaut) UF _D = 3	0,99 mg.m⁻³ (0,24 ppm)

* facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique et de l'étude clé

Le BE a choisi comme effet critique la toxicité hépatique (augmentation du poids du foie) mis en évidence dans une étude publiée de toxicité 90 jours (étude subchronique). Selon le BE, aucun autre effet néfaste n'a pu être identifié.

Le BE note que peu d'études toxicologiques existent sur le DIPE. Une étude de cancérogénicité réalisée chez le rat (voie orale) n'a pas été prise en compte par le BE (Belpoggi *et al.*, 2002).

b- Choix de la dose critique

Il n'est pas possible de réaliser de comparaison avec d'autres doses critiques (LOAEC, NOAEC) car il n'existe pas d'autres études pour la voie respiratoire.

c- Choix des facteurs d'incertitude

Les facteurs d'incertitude utilisés par le BE ne sont pas conformes à ceux recommandés par l'Anses.

Le CES « substances » estime qu'une analyse de l'étude de cancérogénèse par voie orale est nécessaire pour justifier le choix de l'effet et de l'étude.

4.6 Diisopropyl éther (DIPE), voie orale

Tableau 9 : VTR par voie orale pour le DIPE élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
Décès de rats Sprague-Dawley exposés par gavage Kimura <i>et al.</i> , 1971	$DL_{50} = 4\ 500\ \text{mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$	360 $UF_A = 4$ (rat) $UF_H = 5$ (population générale) $UF_S = 6$ (subaiguë à chronique) $UF_L = 3$ (par défaut) $UF_D = 1$ (bonne)	12 mg.kg⁻¹.j⁻¹

* facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique

Le comité d'experts estime que l'effet critique (mort des animaux) et la dose critique (dose létale 50%) choisis ne peuvent pas être utilisés pour établir une VTR (aiguë comme chronique). Le CES considère qu'une VTR dérivée à partir d'une DL_{50} n'est pas suffisamment protectrice.

Le CES « substances » estime qu'il existe pour cette substance et cette voie d'exposition une divergence méthodologique majeure qui ne lui permet pas d'approuver la VTR proposée⁹.

Une analyse approfondie de l'étude de cancérogénicité ¹⁰(voie orale) est nécessaire pour justifier le choix de l'effet et de l'étude.

⁹ Concernant le choix de l'étude, de la dose critique et des facteurs de sécurité, le CES n'a pas jugé utile de faire des commentaires considérant que le choix de l'effet (mortalité) effectué invalidait la proposition de VTR.

¹⁰ une étude de cancérogénicité réalisée chez le rat (voie orale) n'a pas été prise en compte (Belpoggi *et al.*, 2002).

4.7 4-vinylcyclohexène (4VCH), voie respiratoire

Tableau 10 : 4-vinylcyclohexène (4VCH) - VTR par inhalation élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
Etat léthargique des animaux et atrophie ovarienne chez des souris B6C3F1 exposées par inhalation pendant 13 semaines Bevan <i>et al.</i> , 1996	NOAEC = 250 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 45 ppm (250 x 6/24 x 5/7) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 45 ppm (45 ppm x1*)	630 UF _A = 7 (souris) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 2 (subchronique à chronique) UF _L = 3 (utilisation NOAEC) UF _D = 3 (étude par défaut)	0,31 mg.m⁻³ (0,07 ppm)

* facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique

Le BE a choisi comme effet critique la toxicité sur la fonction ovarienne. Ce choix a été réalisé car c'est la seule étude toxicologique disponible sur le 4VCH par voie respiratoire.

Le 4VCH est classé comme étant un cancérogène possible pour l'Homme (2B) par le Centre international de recherche sur le cancer (IARC, 1997).

Le CES estime que ce choix de l'effet critique aurait dû être plus argumenté notamment en étudiant les éventuels effets cancérogènes et le mécanisme à seuil ou sans seuil, à retenir. Le CES note que le Committee for Risk Assessment (RAC) propose une classification cancérogène 2¹¹ (RAC, 2012).

b- Choix de l'étude clé

L'étude sélectionnée correspond à une étude publiée de toxicité sur 90 jours.

Le CES « substances » note qu'il existe pour ce composé plusieurs études de reprotoxicité et de cancérogenèse (citées par l'IARC, 1997).

c- Choix de la dose critique

Il n'est pas possible de réaliser de comparaison avec d'autres doses critiques (LOAEC, NOAEC).

d- Choix des facteurs d'incertitude

Les UF utilisés par le BE ne sont pas conformes à ceux recommandés par l'Anses.

¹¹ Substances et préparations pour lesquelles il existe une forte présomption que l'exposition de l'Homme à de telles substances et préparations peut provoquer un cancer ou en augmenter la fréquence.

Pour le CES « substances », l'approche suivie par le BE ne permet pas d'approuver en l'état la VTR élaborée.

Une analyse approfondie des études identifiées, en particulier sur les effets reprotoxiques et cancérigènes est nécessaire pour justifier le choix de l'effet et de l'étude. Des constructions de VTR cancérigène et reprotoxique pourraient être envisagées.

4.8 4-vinylcyclohexène (4VCH), voie orale

Tableau 11 : 4-vinylcyclohexène (4VCH) - VTR par voie orale élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
Toxicité sur la fonction de reproduction chez des souris CD-1 gestantes exposées par voie orale Grizzle <i>et al.</i> 1994 ;	NOAEL = 250 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	210 UF _A = 7 (souris) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 2 (subchronique à chronique) UF _L = 3 (par défaut) UF _D = 1 (bonne)	1,2 mg.kg⁻¹.j⁻¹

* facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique

Le BE a choisi comme effet critique la toxicité sur la fonction de reproduction et le développement (étude du NTP).

Le 4VCH est classé comme étant un cancérigène possible pour l'Homme (2B) par le Centre international de recherche sur le cancer (IARC, 1997).

Le CES estime que ce choix de l'effet critique aurait dû être plus argumenté notamment en ce qui concerne la prise en compte éventuelle des effets cancérigènes et le type d'effet, à seuil et/ou sans seuil. Le CES note que les dernières conclusions du RAC sont une classification en cancérigène 2 (2012).

b- Choix de l'étude clé

L'étude sélectionnée correspond à une étude sur la reproduction du NTP (publiée par Grizzle *et al.* 1994).

Le CES note qu'il existe pour ce composé des études de reprotoxicité (NTP, 1996) et de cancérigénèse (citées par l'IARC 1997).

c- Choix de la dose critique

Il n'est pas possible de réaliser de comparaison avec d'autres doses critiques (LOAEL, NOAEL).

d- Choix des facteurs d'incertitude

Les facteurs d'incertitude utilisés par le BE ne sont pas conformes à ceux recommandés par l'Anses.

Pour le comité d'experts, l'approche suivie par le BE ne permet pas d'approuver en l'état la VTR élaborée.

Une analyse approfondie des études identifiées (notamment sur les effets cancérigènes et reprotoxiques du 4VCH) est nécessaire pour justifier le choix de l'effet critique et de l'étude. Des constructions de VTR cancérigène et reprotoxique pourraient être envisagées.

4.9 Sec-butyl Ether (s-BE)

Tableau 12 : Sec-butyl ether (s-BE) - VTR par voie orale élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
Toxicité sur la fertilité chez des rats exposés par inhalation au butanol. Cox <i>et al.</i> 1975 ; Gallo <i>et al.</i> 1977 (étude 2 générations)	NOAEC = 1 771 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	120 UF _A = 4 (rats) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 2 (subchronique à chronique) UF _L = 3 (par défaut) UF _D = 1 (bonne)	14,8 mg.kg⁻¹.j⁻¹

* facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

Pour la voie orale, le BE a choisi comme effet critique la toxicité sur la fertilité en se basant sur une étude sur le butanol (par « read-across »¹²).

Pour la voie respiratoire, l'effet critique est celui du DIPE. Le BE a estimé que les deux substances étaient très proches d'un point de vue structural.

Le CES confirme qu'il n'existe pas d'étude toxicologique pour ce composé.

¹² Méthode des références croisées ou « read-across approach ». Prédiction à partir des données relatives à une ou des substances de référence appartenant au même groupe, ou à la même "catégorie" de substances par interpolation vers d'autres substances du groupe.

Le CES « substances » estime que l'approche par « read-across » suivie par le BE ne permet pas de valider en l'état la VTR élaborée. L'utilisation de cette approche dans la construction de VTR nécessite une réflexion plus générale et des compléments méthodologiques pour justifier son utilisation.

4.10 Acétate d'éthyle, voie respiratoire

Tableau 13 : Acétate d'éthyl - VTR par inhalation pour l'acétate d'éthyle élaborée par le BE

Effet critique et étude source	Dose critique	UF*	VTR
Neurotoxicité - Troubles comportementaux chez des rats exposés 99-100 jours par inhalation Christoph <i>et al.</i> , 2003 ;	NOAEC = 350 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 63 ppm (250 x 6/24 x 5/7) <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 63 ppm (63 ppm x 1*)	360 UF _A = 4 (rats) UF _H = 5 (population générale) UF _S = 2 (subchronique à chronique) UF _L = 3 (utilisation NOAEC) UF _D = 3 (étude par défaut)	0,63 mg.m⁻³ (0,17 ppm)

*facteurs d'incertitude (UF) pour les effets systémiques selon l'ECETOC (2010). UF_A = facteur d'incertitude inter-espèces, UF_H = facteur d'incertitude interindividuelle, UF_S = facteur d'incertitude pour la durée d'exposition, UF_L = facteur d'incertitude pour l'utilisation d'un LOAEL, UF_D = facteur d'incertitude pour le manque de donnée

Analyse du CES

a- Choix de l'effet critique

Le BE a choisi comme effet critique la neurotoxicité. L'effet retenu est ici une altération de l'activité motrice chez les rats exposés.

b- Choix de l'étude

L'étude sélectionnée correspond à une étude de toxicité 90 jours (étude subchronique).

c- Choix de la dose critique

Il n'est pas possible de réaliser de comparaison avec d'autres doses critiques (LOAEC, NOAEC) car il n'existe pas d'autre étude pour la voie respiratoire.

d- Choix des facteurs d'incertitude

Les facteurs d'incertitude utilisés par le BE ne sont pas conformes à ceux recommandés par l'Anses.

La démarche suivie par le BE aboutit à une VTR valide mais très conservatrice dont le CES ne recommande pas l'utilisation. Le CES propose de construire une nouvelle VTR.

5 Conclusions du CES sur la construction des VTR par le bureau d'études

Le CES souligne l'effort du BE pour réduire l'incertitude de l'Evaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS) en construisant des VTR pour les six substances chimiques qui n'en possédaient pas. Le CES reconnaît aussi la difficulté à construire des VTR lorsque peu de données toxicologiques sont disponibles.

Analyse de la méthode :

- L'évaluation des risques portait sur des substances pour lesquelles aucune VTR n'était disponible. Dans un souci de réduction de l'incertitude de l'EQRS, le BE a calculé des VTR pour 6 substances jugées préoccupantes.
- La méthode appliquée par le BE pour élaborer des VTR pour les substances n'en disposant pas est une méthode publiée, mais différente de celle recommandée par l'Anses. En effet les recommandations méthodologiques d'ECETOC diffèrent de celles de l'Anses notamment pour la détermination des facteurs d'incertitude.
- D'autres approches non validées ont été proposées par le BE lorsque les données toxicologiques des substances sont pauvres ou insuffisantes (utilisation de DL_{50} ou de la méthode de « read-across »).
- Pour un effet critique portant sur la toxicité sur le développement, la VTR construite est alors applicable sur une durée d'exposition court terme (de quelques heures à une semaine). Selon les recommandations de l'Anses, aucun facteur d'incertitude pour la durée d'exposition n'aurait du être appliqué.

Analyse des valeurs proposées

L'analyse des VTR proposées par le BE pour chacune des substances pour les voies d'exposition orale et respiratoire a permis de classer les valeurs en deux catégories en fonction de la qualité de la valeur, de son utilisation dans la présente EQRS et de la possibilité de développer une VTR selon les critères recommandés par l'Anses :

1- Les substances et les voies d'expositions pour lesquelles le choix de la démarche est en cohérence avec le référentiel ECETOC mais ne correspond pas aux méthodes préconisées par l'Anses. Le CES ne peut retenir les VTR proposées. Les substances concernées sont les suivantes (tableau 14) :

Tableau 14 : substances et les voies d'expositions pour lesquelles le choix de la démarche est en cohérence avec le référentiel ECETOC

Substance	Voie d'exposition	Points critiques	Avis du CES
Tert-butanol	Respiratoire	Effet critique et choix des facteurs d'incertitude, durée d'application de la VTR	Condition d'application non conforme
Tert-butanol	Orale	Effet critique et choix des facteurs d'incertitude, durée d'application de la VTR	Condition d'application non conforme
Acétate d'éthyle	Respiratoire	Choix des facteurs d'incertitude	Approche conservatrice
Diisobutylène	Respiratoire	Effet critique (mort des animaux)	Effet non protecteur : non pertinent pour le calcul d'une VTR
Diisopropyl éther	Orale	Effet critique (mort des animaux)	Effet non protecteur : non pertinent pour le calcul d'une VTR
Sec-butyl Ether	Orale et respiratoire	Approche par read across à partir d'une autre substance	Approche non évaluée par l'Anses

2- Les substances et les voies d'exposition pour lesquelles le CES a identifié des données non prises en compte par le BE. Une analyse plus complète des données est nécessaire. Il n'est pas possible d'approuver en l'état les VTR.

Une recherche bibliographique complémentaire, ainsi qu'une analyse des études identifiées, sont nécessaires pour justifier le choix de l'effet et de l'étude. Les substances concernées sont (tableau 15) :

Tableau 15 : substances et les voies d'exposition pour lesquelles une analyse plus complète des données est nécessaire

Substance	voie d'exposition	Points critiques	Avis du CES
Diisobutylène	Orale	Etude non publiée	Pas d'accès à l'étude
Diisopropyl éther	Respiratoire	Effet critique et dose critique (à expliciter)	Nécessité de l'analyse de l'étude de cancérogénicité
4-vinylcyclohexène	Orale et Respiratoire	Effet critique et dose critique (à expliciter)	Choix de l'effet critique : <u>cancérogène</u> classé 2B par le CIRC <u>reprotoxique</u>

6 Conclusions de l'expertise collective partie I

A la première question posée par la saisine, à savoir l'examen de la construction des VTR et de leurs conditions d'utilisations, le comité d'experts considère qu'à l'issue de cette analyse, la démarche suivie par le BE est cohérente avec le référentiel qu'il a choisi (ECETOC, 2010) tant dans la démarche générale que dans l'application de la méthode. Cependant, cette démarche comporte des différences méthodologiques importantes par rapport aux recommandations de l'Anses. En conséquence, les VTR élaborées par le BE soumises à l'expertise de l'Anses ne peuvent pas être validées en l'état.

Le CES propose la construction de VTR pour l'ensemble des composés en s'appuyant sur les guides d'élaboration des VTR publiés par l'Anses. Les données disponibles pour le sec-butyl éther, le diisobutylène (voie respiratoire) et le diisopropyl éther (voie orale) étant limitées, la possibilité de construction de VTR pour ces substances est incertaine.

Partie II - Construction de valeurs toxicologiques de références par l'ANSES

1 Construction de VTR par l'ANSES

Comme rappelé au §2 de la partie 1, l'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives s'appuyant sur le jugement d'experts (Anses, 2010).

Cette méthode a débuté par une recherche bibliographique. Afin de réaliser ces constructions de VTR, les monographies ou rapports suivants ont été dans un premier temps consultés : ECHA, US EPA, ATSDR, IARC, ... Les renseignements apportés par ces monographies ont été complétés par d'autres rapports concernant les substances et par des articles complémentaires en réalisant une recherche sur les différents moteurs de recherche : Pubmed, Toxnet.

Une analyse des données disponibles a été menée pour chacune des substances et voie d'exposition afin de préciser les études de qualité et d'évaluer les effets critiques et doses critiques utilisables pour l'élaboration de VTR.

De manière générale, l'analyse des données bibliographiques disponibles pour les substances concernées a mis en évidence qu'il existe actuellement peu d'études pour chacune d'entre elles et qu'il s'agit donc d'exploiter au mieux les données disponibles. Dans ces conditions, la construction de VTR est un exercice difficile.

Lorsque les données ont été évaluées comme insuffisantes, il n'a pas été possible de construire de VTR. Lorsque des données étaient disponibles, seules celles dont la qualité et la pertinence ont été jugées satisfaisantes ont été retenues pour la construction de VTR. Dans ces conditions, seules les VTR jugées possibles ont été construites.

2 VTR du Tert-Butanol

2.1 VTR pour la voie orale

2.1.1 Choix de l'effet critique et de l'étude clé

2.1.1.1 Etudes subchroniques

Le NTP a réalisé des études de toxicité subchroniques (13 semaines) chez le rat Fisher et la souris B6C3F1 (voie orale) (NTP, 1995) qui suivent les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL).

Des rats Fisher (10 animaux par doses et par sexe) ont été exposés *via* l'eau de boisson au TBA pendant 13 semaines (7 jours par semaine) aux doses de 0, 230, 490, 840, 1 520 et 3 610 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 0, 290, 590, 850, 1 560 et 3 620 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les femelles.

Les auteurs ont observé une toxicité rénale chez les mâles et les femelles (augmentation du poids absolu et relatif des reins) à toutes les doses. Chez les mâles, l'examen histopathologique a révélé que cette toxicité était liée à l'accumulation de gouttelettes hyalines contenant l'alpha-2 microglobuline. L'alpha-2 microglobuline est une protéine de faible poids moléculaire qui est sécrétée exclusivement chez le rat mâle adulte. La toxicité rénale induite par ce mécanisme est spécifique à l'animal et non transposable à l'Homme (Borghoff *et al.*, 2001). Chez le rat femelle, on ne peut pas écarter une toxicité rénale puisque cette augmentation statistiquement significative du poids relatif des reins est associée à une néphropathie (définie par le NTP comme une augmentation de la régénération de l'épithélium tubulaire) à partir de 850 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (correspondant à un LOAEL).

Une toxicité hépatique chez les mâles et les femelles (augmentation statistiquement significative du poids relatif du foie) a été observée respectivement à partir de 490 et 590 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Les auteurs ont également observé une hyperplasie de l'épithélium de la vessie chez les mâles à la dose de 3 610 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Le NTP n'a pas observé de toxicité sur les fonctions reproductrices mâles (poids des testicules, motilité spermatique, morphologie des spermatozoïdes, ...) et femelles (durée du cycle œstral).

Des souris B6C3F1 (10 animaux par dose et par sexe) ont été exposées *via* l'eau de boisson au TBA pendant 13 semaines (7 jours par semaine) aux doses de 0, 350, 640, 1 590, 1 940 et 8 210 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 0, 500, 820, 1 660, 6 430 et 11 620 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les femelles.

Les auteurs ont observé une toxicité rénale (augmentation du poids absolu et relatif des reins) à partir de 3 940 et 11 620 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les mâles et les femelles.

Une toxicité hépatique chez les mâles et les femelles (augmentation statistiquement significative du poids relatif du foie) a été observée respectivement à partir de 3 940 et 11 660 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Le NTP n'a pas observé de toxicité sur les fonctions reproductrices mâles (poids des testicules, motilité spermatique, morphologie des spermatozoïdes,...) mais a noté une augmentation significative de la durée du cycle œstral chez les femelles à la dose de 11 620 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

2.1.1.2 Etudes chroniques et de cancérogénèse

Le NTP a réalisé une étude de **cancérogénèse** chez le rat Fisher et la souris B6C3F1 (voie orale) (NTP 1995) qui suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL).

Des rats Fisher (60 animaux par dose et par sexe) ont été exposés *via* l'eau de boisson au TBA pendant 104 semaines (7 jours par semaine) aux doses de 0, 90, 200 et 420 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 0, 180, 330 et 650 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les femelles.

Les auteurs ont observé une toxicité rénale (augmentation statistiquement significative du poids absolu et/ou relatif du poids des reins) à toutes les doses pour les femelles (LOAEL = 180 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et à partir de 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les mâles.

Parmi les autres effets significatifs observés sur les reins chez les rats femelles, les auteurs ont décrit une inflammation, une hyperplasie des tubules rénaux, une hyperplasie de l'épithélium ainsi qu'une augmentation dose dépendante de la sévérité de la néphropathie (Tableau 16).

La mesure de la sévérité de la néphropathie comprenait l'observation de l'épaississement du tubule et des membranes glomérulaires, des foyers basophiles de l'épithélium tubulaire, agrégats de cellules inflammatoires mononuclées dans des zones de fibroses interstitielles et sclérose glomérulaire.

Tableau 16 : Effets observés sur le rein chez les rats femelles F344 exposées au TBA pendant deux ans (NTP, 1995)

Dose (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	Pourcentage d'augmentation poids relatif du rein (par rapport au groupe témoin)	Inflammation	Hyperplasie des tubules rénaux	Hyperplasie de l'épithélium	Sévérité de la néphropathie ^a
0	0	2/50	0/50	0/50	1,6
180	14*	3/50	0/50	0/50	1,9*
330	21*	13/50**	0/50	3/50	2,3*
650	42*	17/50**	1/50	17/50*	2,9*

*p<0,05 (Mann Whitney U test)

**p<0,01

^a le NTP a calculé une moyenne de la sévérité des lésions (le score était reparti de la manière suivante chez les animaux affectés: 1 = minime; 2 = léger; 3 = modéré; 4 = prononcé

Chez les mâles, une augmentation significative des carcinomes et adénomes tubulaires a été décrite (4/50, 13/50¹³, 18/50 et 12/50). L'accumulation de gouttelettes hyalines contenant l'alpha-2 microglobuline au niveau des tubules rénaux a conduit à une cytotoxicité. Une prolifération cellulaire prolongée aurait lieu par compensation, puis par la promotion de cellules initiées aboutirait à l'apparition de tumeurs dans les tubules rénaux (Borghoff *et al.*, 2001, Dill *et al.*, 2003, Swenberg & Lehman-McKeeman, 1999). L'alpha-2 microglobuline est une protéine de faible poids moléculaire qui est sécrétée exclusivement chez le rat mâle adulte. Le CES considère que cet effet qui est retrouvé chez le rat mâle exclusivement n'est pas transposable à l'Homme.

Les souris B6C3F1 (60 animaux par dose et par sexe) ont été exposées *via* l'eau de boisson au TBA pendant 104 semaines (7 jours par semaine) aux doses de 0, 540, 1080, 1590, et 2770 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 0, 510, 1020 et 2110 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les femelles.

Une augmentation significative d'animaux atteints d'hyperplasie des follicules thyroïdiens a été décrite chez les mâles (5/60, 18/59*, 15/59*, et 18/57*) et chez les femelles (19/58, 28/60, 33/59*, et 47/59*). Chez les femelles, une augmentation du nombre d'adénomes et/ou de carcinomes des follicules thyroïdiens a été jugée significative à la dose de 2 110 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (2/58, 3/60, 2/59 et 9/59*). Selon l'IARC (1999), les rongeurs sont plus sensibles que l'Homme à l'induction de tumeurs de la thyroïde en raison de déséquilibres hormonaux qui provoquent des niveaux de TSH élevés. Comme pour le phénobarbital, le TBA provoquerait une induction enzymatique qui affecterait le métabolisme des hormones thyroïdiennes. Les niveaux circulants des hormones T3 et T4 diminueraient ce qui provoquerait par un mécanisme compensatoire l'augmentation de TSH conduisant à une prolifération des follicules thyroïdiens et éventuellement à la formation de tumeur au niveau de la thyroïde (OCDE, 2002 ; McGregor, 2010). Le CES considère que cet effet sur la thyroïde (hyperplasie des follicules thyroïdiens et adénome et/ou carcinome des follicules thyroïdiens) qui est retrouvé chez la souris femelle, n'est pas transposable à l'Homme (OCDE, 2002).

2.1.1.3 Etudes de génotoxicité

Concernant la génotoxicité, les différents tests génotoxiques *in vivo* et *in vitro* ont montré que le TBA n'était pas génotoxique (NTP, 1995 ; US EPA, 2013 ; McGregor, 2010) (Tableau 17).

¹³ p<0,05

Tableau 17 : Résumé des tests de génotoxicité sur le TBA (extrait de McGregor, 2010)

Test system	Results ^a		Dose ^b (LED or HID)	Reference
	Without exogenous metabolic system	With exogenous metabolic system		
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA98, TA1537, TA1538 reverse mutation	-	-	1,000 µg/plate	Hüls AG (1979)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA98, TA1537, TA1538 reverse mutation	-	-	7,800 µg/plate	EG&G Mason (1981a)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535 reverse mutation	+	+	3,900 µg/plate	EG&G Mason (1981a)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538 reverse mutation	-	-	10,000 µg/plate	Zeiger et al. (1987)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA102, reverse mutation	±	+	750 µg/plate	Williams-Hill et al. (1999)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA102 reverse mutations	-	-	5,000 µg/plate ^c	McGregor et al. (2005)
Single cell gel electrophoresis (comet) assay, human HL-60 leukaemia cells in vitro	+	NT	1 mM	Tang et al. (1999)
Gene mutation, mouse lymphoma L5178Y cells, <i>tk</i> locus in vitro	-*	-	17,000 mg/ml	EG&G Mason (1981b)
Gene mutation, mouse lymphoma L5178Y cells, <i>tk</i> locus in vitro	-	-	5,000 mg/ml	McGregor et al. (1988)
Sister-chromatid exchange, Chinese hamster ovary CHO cells in vitro	±	-	7,800 mg/ml	EG&G Mason (1981c)
Sister-chromatid exchange, Chinese hamster ovary CHO cells in vitro	-	-	5,000 µg/ml	NTP (1995)
Chromosomal aberrations, Chinese hamster ovary CHO cells in vitro	-	-	5,000 µg/ml	NTP (1995)
DNA adducts, male Kunming mouse liver, kidney and lung cells in vivo	+**		0.1 µg/kg bw × 1 p.o.	Yuan et al. (2007)
Micronucleus formation, male and female B6C3F1 mouse peripheral blood cells in vivo	-		40 mg/ml drinking water for 13 weeks	NTP (1995)

^a +, positive; -, negative; NT, not tested.
^b LED, lowest effective dose; HID, highest ineffective dose.
^c Result of independent tests in two laboratories.
* A lower purity sample gave a significant response in the absence of S9 mix at 7,800 µg/ml.
** Considered an invalid technique (see text).

2.1.1.4 Etudes sur la reproduction et le développement

Le CES a analysé l'étude sélectionnée par le BE qui correspond à une étude de reproduction et développement (étude sur 1 génération) non publiée de Lyondell Chemical Compagny (2004). Le rapport d'étude a été transmis par l'US EPA à l'Anses. Cette étude a été réalisée par Huntingdon Life Science en 2004 pour le compte de la société Lyondell Chemical Compagny. Il s'agit d'une étude de reprotoxicité, qui se rapproche de la ligne directrice de l'OCDE (Essai n° 421: Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement) qui suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Des rats Sprague Dawley (12 par sexe et par groupe de doses) ont été exposés au TBA par gavage à 0, 64, 160, 400, et 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pendant 4 semaines avant l'accouplement. L'exposition a duré au total 9 semaines couvrant ainsi la gestation et la lactation pour les femelles.

Pour les animaux parents de la génération F0, des examens histologiques ont été réalisés sur les ovaires, testicules, épидидymes, foie et reins sur l'ensemble des animaux. Les autres organes ont été prélevés et conservés. La fertilité et la gestation ont également été analysées. Pour les F1

(progéniture), les examens ont porté sur le nombre d'embryons implantés, de corps jaunes, le nombre de petits vivants à la naissance et les pertes après implantation, la croissance post-natale,...

Cette étude ne rapporte aucun effet sur l'accouplement ni sur la fertilité chez les F0. Seule une léthargie transitoire a été observée chez les mâles à 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Pour les F1, une diminution du poids à la naissance a été observée ainsi qu'une augmentation statistiquement significative de la mortalité péri-natale (LOAEL à 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) (Tableau 18).

Tableau 18 : Effets observés chez la génération F1 (extrait du rapport de Lyondell Chemical Compagny, 2004)

		Dose (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)				
		0	64	160	400	1000
Nouveaux nés vivants par portées	Moyenne	15,2	13,8	13,5	14,1	10,2*
	Ecart type	1,25	1,99	3,99	2,39	5,12
	Nombre de portées observées	11	11	12	12	11
Poids des nouveaux nés par portée en gramme (au jour 7)	Moyenne	16,6	17,0	16,7	16,6	14,0
	Ecart type	1,13	1,53	2,39	1,95	2,08*
	Nombre de portées observées	11	11	12	12	10

*p<0,01

En conclusion, le CES a décidé de construire deux VTR pour la voie orale :

- une VTR basée sur les effets reprotoxiques. Le CES a considéré comme effet critique la mort de rats Sprague Dawley nouveau-nés décrite dans le rapport d'étude de Lyondell Chemical Compagny (2004). Cette VTR est applicable pour des durées d'exposition courtes (quelques heures à quelques jours)
- une VTR chronique basée sur la toxicité rénale. Le CES a considéré la toxicité rénale observée chez le rat femelle dans les études du NTP (subchronique et cancérogène) comme un effet critique pertinent.

2.1.2 VTR basée sur les effets reprotoxiques

Le CES rappelle qu'une VTR pour un effet sur le système reproductif s'applique pour des durées d'exposition d'une journée (Afsset, 2007).

2.1.2.1 Choix de la dose critique

Dans le rapport d'étude de Lyondell Chemical Compagny (2004), le NOAEL identifié était de $400 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Le LOAEL était de $1\ 000 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ et était associé à une mortalité des rats nouveaux-nés augmentée d'environ 30 % par rapport au groupe témoin.

2.1.2.2 Calcul de la dose critique

Les données expérimentales établies sur la diminution du nombre de nouveaux-nés vivants à la naissance ont pu être modélisées à l'aide des modèles mathématiques utilisés par le logiciel Proast (Proast software version 38) élaboré par le RIVM afin d'établir une Benchmark dose (BMD) (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). S'agissant d'une variable continue (mesure d'une variable biologique), l'une des principales difficultés lors de la construction d'une BMDL concerne le choix de la BMR (Benchmark Response level), c'est-à-dire le choix de la modification maximale tolérée comme étant physiologique (ou non néfaste) pour le paramètre étudié (ici, nombre de nouveaux-nés vivants à la naissance).

Selon les recommandations de l'US EPA (US EPA, 2000), la BMD et la BMDL peuvent être calculées à partir d'une réponse correspondant à un changement dans les résultats d'un écart-type par rapport à la moyenne des témoins¹⁴. Pour le groupe témoin, la moyenne du nombre total de nouveaux-nés vivants par portée à la naissance était de 15,2 et l'écart type de 1,25 ce qui correspond à une diminution de nombre nouveaux-nés de 8% (arrondie à 10%). Ainsi, le CES « Substances » a choisi de retenir comme BMR une diminution de 10 % du nombre nouveaux-nés vivants à la naissance par rapport au groupe témoin.

¹⁴ La BMD calculée correspond souvent à un excès de risque, ou une diminution par rapport au groupe témoin approximatif de 10 %.

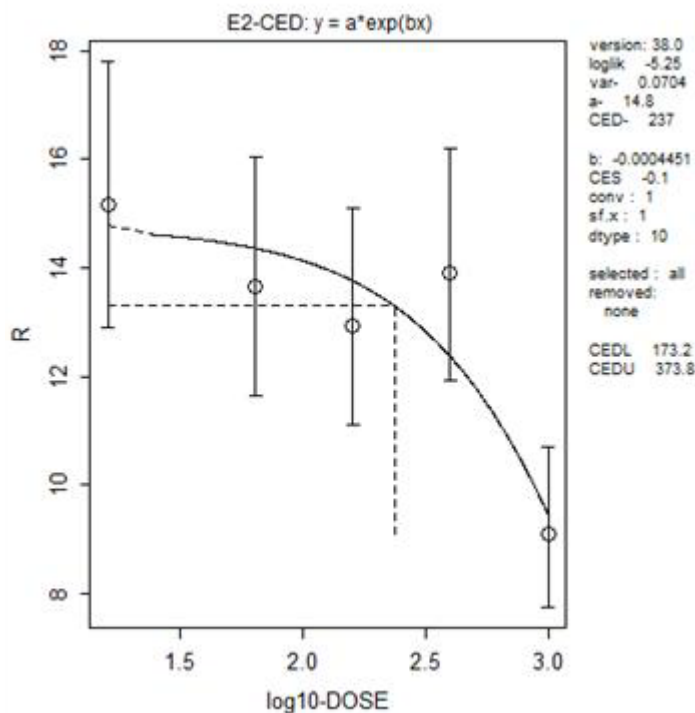


Figure 1 : Modélisation de la diminution du nombre de nouveaux nés vivants à la naissance en fonction de la dose d'exposition de la mère

Lors de la détermination de la BMDL, plusieurs modèles mathématiques ont été testés. La méthode d'ajustement du modèle aux données est le maximum de vraisemblance. Le niveau de confiance associé à la BMDL est de 90% (one side).

Dans le cas du TBA, le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales est le modèle exponentiel. Les valeurs des BMD (ou CED) et BMDL (ou CEDL) sont respectivement de 237 et de 173,2 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

2.1.2.3 Ajustement allométrique

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante¹⁵ :

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids homme}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des rats (femelle) correspondant au poids des femelles en fin de gestation est de 400 g (cf. table 7 page 65 du rapport de Lyondell Chemical Compagny, 2004). Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

¹⁵ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

Soit une dose critique $BMD_{10\%L_{90\% HED}} = 47,6 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$

2.1.2.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $BMDL_{HED}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et des incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$UF_{A-TD} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$UF_H = 10$$

- Facteur d'incertitude lié à l'usage d'une $BMD_{10\%}$ (UF_B) : une valeur de 3 peut être retenue lorsqu'une $BMD_{10\%L_{90\%}}$ est calculée pour un effet reprotoxique (Afsset 2007). Pour cette VTR, la valeur de la $BMD_{10\%L_{90\%}}$ (173 mg.kg $\text{pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$) établie est inférieure à la valeur du NOAEL (400 mg.kg $\text{pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$). Le CES considère que la valeur de 1 est suffisante pour cet UF.

$$UF_B = 1$$

Tableau 19 : VTR basée sur les effets reprotoxiques pour la voie orale du tert-butanol

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Mort de rats nouveau-nés peu après leur naissance			VTR = 1,90 mg.kg $\text{pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$
Rapport d'étude de Lyondell Chemical Compagny (2004) : étude de reprotoxicité chez des rats Sprague Dawley exposés 9 semaines (4 semaines avant l'accouplement, puis sur la période couvrant ainsi la gestation et la lactation pour les femelles)	$BMD_{10\%L_{90\%}} = 173 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Ajustement allométrique</u> $BMD_{10\%L_{90\% HED}} = 47,6 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	25 $UF_{A-TD} = 2,5$ $UF_H = 10$ $UF_B = 1$	Niveau de confiance : Moyen/fort

Le niveau de confiance global moyen/fort a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : fort

L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait un corpus de données sur le TBA, notamment avec les études du NTP.

- choix de l'effet critique et mode d'action : moyen
Cet effet n'a été observé que dans une seule étude

- choix de l'étude clé : fort

L'étude est très bien décrite et s'approche de la ligne directrice OCDE 421 (qui suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire)

- choix de la dose critique : moyen

Il n'a pas été possible de modéliser la relation dose réponse, et aucune BMD n'a pu être mis en évidence.

2.1.3 VTR chronique

2.1.3.1 Choix de la dose critique

Dans l'étude du NTP (1995), le LOAEL identifié était de 180 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Ce LOAEL était associé à une augmentation de la sévérité de la néphropathie dose dépendante (Tableau 16).

Les données expérimentales fournies par le NTP ne suffisent pas pour établir une Benchmark dose (BMD). S'agissant d'une variable continue, le NTP ne précise pas l'écart type associé à la moyenne de la sévérité de la néphropathie pour chaque groupe de doses.

La dose critique est donc le LOAEL de 180 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹

2.1.3.2 Ajustement allométrique

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante¹⁶ :

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids homme}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des rats (femelle) pris est de 303 g correspondant au poids des femelles en fin d'étude (cf. moyennes des poids de tous les animaux table 6 page 39 du NTP, 1995). Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique **LOAEL_{HED} = 46 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹**

¹⁶ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

2.1.3.3 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir du LOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et des incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$UF_{A-TD} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$UF_H = 10$$

- UF_L : ce facteur d'incertitude est appliqué lorsque la dose critique a été déterminée à partir d'un LOAEL

$$UF_L = 3$$

Tableau 20 : VTR chronique pour la voie orale du tert-butanol

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Toxicité rénale chez le rat femelle F344	LOAEL = 180 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	75	VTR = 600 µg.kg pc⁻¹.j⁻¹
Rapport d'étude du NTP (1995) : étude de cancérogénicité	<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL _{HED} = 46 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _L = 3	Niveau de confiance : Moyen/fort

Le niveau de confiance global moyen/fort a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : fort
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait un corpus de données sur le TBA, notamment avec les études du NTP.
- choix de l'effet critique et mode d'action : moyen
Cet effet n'a été observé que dans une seule espèce (rat)
- choix de l'étude clé : fort
Il s'agit d'une étude de cancérogénicité du NTP détaillée (qui suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire)

- choix de la dose critique : faible
Seul, un LOAEL a pu être déterminé à partir de relation dose réponse.

2.2 VTR pour la voie respiratoire

2.2.1 Choix de l'effet critique et de l'étude clé

2.2.1.1 Etudes subchroniques

Le NTP (1997) a réalisé des études 13 semaines par inhalation chez des rats Fisher et des souris B6C3F1. Dans ces études, des examens hématologiques et des analyses biochimiques ont été pratiqués sur l'ensemble des animaux ainsi qu'un examen histopathologique complet sur différents organes (foie, reins, ovaires, testicules,...). Une évaluation des fonctions reproductives mâle et femelle a également été réalisée.

Des rats Fisher (10 animaux par doses et par sexe) ont été exposés par inhalation au TBA pendant 13 semaines (6 heures par jour, 5 jours par semaine) aux concentrations de 0, 134, 272, 542, 1 080 et 2 101 ppm.

Des souris B6C3F1 (10 animaux par doses et par sexe) ont été exposées par inhalation au TBA pendant 13 semaines (6 heures par jour, 5 jours par semaine) aux concentrations de 0, 134, 272, 542, 1 080 et 2 101 ppm.

Les auteurs n'ont observé aucune toxicité sur les fonctions reproductrices mâles (poids des testicules, motilité spermatique, morphologie des spermatozoïdes,...) et femelles (durée du cycle œstral) chez les souris comme chez les rats.

Les auteurs ont observé une toxicité rénale chez les rats mâles. L'examen histopathologique des reins n'a été réalisé que sur le rat mâle révélant une néphropathie. L'examen histopathologique des reins (réalisé dans l'étude NTP voie orale, cf. supra) avait révélé que cette toxicité était liée à l'accumulation de gouttelettes hyalines contenant l'alpha-2 microglobuline. L'alpha-2 microglobuline est une protéine de faible poids moléculaire qui est sécrétée exclusivement chez le rat mâle adulte. La toxicité rénale induite par ce mécanisme est spécifique à l'animal et non transposable à l'Homme.

Chez les mères, les auteurs ont décrit une diminution du poids corporel à 5 000 ppm, ainsi qu'une diminution significative de l'activité locomotrice (démarche instable) à partir de 2 000 ppm.

2.2.1.2 Etudes sur la reproduction et le développement

Pour la construction de la VTR respiratoire, le bureau d'études avait choisi comme étude clé la toxicité sur la reproduction et le développement (Nelson *et al.*, 1989). L'effet retenu était une altération de l'activité locomotrice chez les rates exposées ainsi qu'une diminution du poids des fœtus à la naissance.

Dans l'étude de Nelson *et al.* (1989), des rates Sprague Dawley (15 à 20 par concentration) ont été exposées à 0, 2 000, 3 500 et 5 000 ppm de TBA, 7 heures par jour pendant la gestation (du jour 1 au jour 19). Les animaux ont été sacrifiés le jour 20.

Chez les mères, des observations cliniques (consommation de nourriture, et d'eau, mesure du poids corporel,...) ont été réalisés. Le nombre de corps jaunes, le nombre d'implantations, le nombre et les pourcentages de fœtus vivants, morts et de résorptions ont également été comptés.

Chez les mères, les auteurs ont décrit une diminution de poids corporel à 5 000 ppm, ainsi qu'une diminution significative de l'activité locomotrice (démarche instable) à partir de 2 000 ppm.

Les auteurs ont observé une augmentation statistiquement significative des variations/malformations squelettiques à partir de 2 000 ppm chez les fœtus, mais pas chez les portées.

Les auteurs ont également décrit une diminution significative du poids des fœtus à partir de 2 000 ppm (Tableau 21).

Tableau 21 : Résumé des effets sur le développement observés après exposition au TBA (Nelson *et al.*, 1989)

		Concentration (ppm)			
		0	2 000	3 500	5 000
Poids des fœtus (moyenne)	mâles	3,4 ± 0,21	3,1 ± 0,19*	3,0 ± 0,24*	2,3 ± 0,34*
	féelles	3,2 ± 0,23	2,9 ± 0,20*	2,8 ± 0,20*	2,2 ± 0,34*
Malformations squelettiques	Nombre de fœtus atteints/Nombre de fœtus observés	18/96	35/104*	53/103*	76/83*
	Nombre de portées atteintes/Nombre de portées observées	10/15	14/17	14/14	12/12

*p<0,05 (moyenne ± écart type)

Les auteurs n'ont pas identifié d'autre effet néfaste sur d'autres fonctions ni organes.

Selon les lignes directrices de l'OCDE (ligne directrice 414), le CES a considéré la portée comme unité pour l'analyse des résultats et n'a pas retenu comme effet critique l'augmentation des malformations squelettiques chez les fœtus puisqu'elle n'était pas significative. Il faut noter également que le poids de fœtus n'a pas été catégorisé par portée et qu'il n'est donc pas possible de retenir cet effet comme critique.

Dans l'analyse de l'étude de Nelson *et al.* (1989), le NTP (1997) ne considère pas ces effets observés chez le fœtus (malformations squelettiques et diminution du poids fœtal) comme significatif.

En conclusion, les études portant sur la voie respiratoire (Nelson *et al.*, 1989 ; NTP, 1997) sont une étude sur la reproduction et une étude subchronique (13 semaines). Le CES considère que les effets mis en évidence dans ces deux études (altération de l'activité locomotrice chez le rat femelle, toxicité rénale chez le rat mâle) ne sont pas pertinents à retenir comme effet critique pour l'élaboration d'une VTR pour la voie respiratoire.

La diminution significative de l'activité locomotrice (démarche instable) à partir de 2 000 ppm est juste mentionnée par les auteurs sans être décrite en détail (Nelson *et al.*, 1989). D'autre part, cet effet n'a pas été rapporté par le NTP (étude 13 semaines).

La toxicité rénale observée chez le rat mâle est spécifique à l'animal et non transposable à l'Homme (NTP, 1997).

2.2.2 VTR chronique

2.2.2.1 Choix de la dose critique et calcul de la VTR

En l'absence d'étude chronique sur la voie respiratoire, et de l'absence d'effet critique retrouvé dans les études subchroniques, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR chronique pour la voie respiratoire à partir de l'étude de cancérogénicité du NTP (1995), dont le LOAEL identifié était de 180 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Ce LOAEL était associé à une augmentation de la sévérité de la néphropathie dose dépendante chez le rat femelle (Tableau 16).

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$\text{VTR}_{\text{voie respiratoire}} = \text{VTR}_{\text{orale}} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3$$

Tableau 22 : VTR chronique pour la voie respiratoire du tert-butanol

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Toxicité rénale chez le rat femelle F344	LOAEL = 180 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	75	VTR = 2,1 mg.m⁻³
Rapport d'étude du NTP (1995) : étude de cancérogénicité	<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL _{HED} = 46 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _L = 3	Niveau de confiance : Faible

Le niveau de confiance d'une VTR construite par extrapolation voie à voie basée sur l'hypothèse par défaut d'une absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal) est considéré comme faible.

2.3 Conclusion pour le Tert-Butanol

Une VTR reprotoxique pour la voie orale a été élaborée au regard des effets observés chez l'animal (mortalité péri natale) d'après le rapport d'étude de Lyondell Chemical Compagny (2004). Dans l'analyse de l'étude de Nelson *et al.* (1989) (étude par inhalation), aucune mortalité peri

natale n'a été décrite. Le CES a estimé qu'il n'était donc pas pertinent d'élaborer une VTR reprotoxique pour la voie respiration par extrapolation à partir de la VTR par voie orale.

Pour la construction des VTR chroniques voies orale et respiratoire, la toxicité rénale chez le rat femelle F344 (NTP, 1995) a été retenue comme effet critique.

Le CES a écarté les effets cancérigènes du TBA estimant que les tumeurs sur les reins et la thyroïde décrites dans l'étude du NTP (1995) étaient spécifiques à l'animal et non transposable à l'Homme. D'autre part, l'ensemble des tests de génotoxicité montre que la substance n'est pas génotoxique ou génotoxique uniquement à des doses ou à des concentrations supérieures ou égales à celles induisant des effets cytotoxiques et qu'en l'absence d'effets cancérigènes pertinents, il a été décidé de ne pas élaborer une VTR pour les effets cancerogènes sans seuil.

3 VTR du Diisobutylène (DIBE)

Il n'existe pas de données bibliographiques publiées pour ce composé.

Le CES note qu'il n'existe que deux études pour ce composé réalisées par Huntingdon Life Science (1997a, b). Dans le rapport d'évaluation de risque (« Risk Assessment Report » ou RAR) de l'Union européenne (UE RAR, 2008), la toxicité hépatique a été considérée comme effet critique en se basant sur l'étude de Huntingdon Life Science (1997a).

Le CES s'est appuyé sur ce rapport (UE RAR, 2008) afin d'élaborer les VTR orales et respiratoires pour le DIBE en ayant eu accès aux détails des études qui sont disponibles sur le site de l'ECHA (<http://echa.europa.eu/information-on-chemicals>).

3.1 VTR pour la voie orale

3.1.1 Choix de l'effet critique et de l'étude clé

3.1.1.1 Etude subchronique

L'étude de Huntingdon Life Science (1997a) suit la ligne directrice de l'OCDE (Essai n° 407 : Toxicité orale à doses répétées - pendant 28 jours sur les rongeurs et qui suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Des rats Sprague Dawley pré-pubères (5 par sexe et par groupe de dose) ont été exposés au DIBE par gavage à 0, 100, 300 et 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pendant 28 jours (étude subchronique).

Dans cette étude, l'ensemble des examens préconisés dans la ligne directrice OCDE Essai n° 407 ont été pratiqués : évaluations neurocomportementales, examens hématologiques, analyses biochimiques. Un examen histopathologique complet a été pratiqué sur les tissus et organes de tous les animaux (comprenant foie, reins, ovaires, testicules,...).

Le seul effet rapporté a été une augmentation statistiquement significative du poids (absolu et relatif) du foie et des reins (chez les mâles et les femelles) à la dose de 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ mais sans lésions histopathologiques. Un NOAEL de 300 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a donc été établi sur la base de cet effet.

Dans cette étude, la toxicité rénale observée chez le rat mâle n'est pas liée à l'accumulation de gouttelettes hyalines contenant l'alpha-2 microglobuline. L'alpha-2 microglobuline est sécrétée exclusivement chez le rat après la puberté. Ce type de néphrotoxicité ne devrait pas apparaître chez les rats pré-pubères utilisés dans l'étude de toxicité 28 jours.

3.1.1.2 Etudes sur la reproduction et le développement

L'étude de Huntingdon Life Science (1997b) est une étude de reprotoxicité qui suit la ligne directrice de l'OCDE (Essai n° 421: Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement) et qui suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Des rats Sprague Dawley (10 par sexes et par groupe de doses) ont été exposés au DIBE par gavage à 0, 100, 300 et 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ pendant 15 jours avant l'accouplement. L'exposition a continué pendant la gestation et jusqu'au troisième jour de lactation pour les femelles et 6 semaines pour les mâles.

Des examens histologiques ont été réalisés sur les ovaires, les testicules, les épидидymes, les reins et le foie sur l'ensemble des animaux. Les autres organes ont été prélevés et conservés. Cette étude ne rapporte aucun effet sur la reproduction, la progéniture, la croissance post-natale. Selon le RAR, le NOAEL pour les effets reprotoxiques serait de 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Une toxicité rénale (augmentation absolue et relative du poids des reins) sur le rat mâle a été observée à partir de la dose d'exposition de 300 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. L'examen histopathologique a révélé que cette toxicité était liée à l'accumulation de gouttelettes hyalines contenant l'alpha-2 microglobuline. L'alpha-2 microglobuline est une protéine de faible poids moléculaire qui est sécrétée exclusivement chez le rat mâle adulte. La toxicité rénale induite par ce mécanisme est spécifique au rat et non transposable à l'Homme.

En conclusion, comme le RAR, le CES a considéré comme effet critique la toxicité hépatique et rénale en se basant sur l'étude de Huntingdon Life Science (1997a).

3.1.2 VTR chronique

3.1.2.1 Choix de la dose critique

Un NOAEL de 300 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a donc été établi sur la base de la toxicité hépatique et rénale observée dans l'étude de Huntingdon Life Science (1997a).

Il n'a pas été possible d'établir une BMD à partir de cette étude. Le site de l'ECHA ne fournissait pas l'ensemble des données nécessaires à la modélisation de la relation dose réponse.

3.1.2.2 Ajustement allométrique

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé, et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose), à l'aide de l'équation suivante¹⁷ :

¹⁷ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids homme}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des rats de l'étude était de 120 g (animaux pré pubères). Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique $\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 61 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$

3.1.2.3 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir du $\text{NOAEL}_{\text{HED}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$\text{UF}_{A\text{-TD}} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$\text{UF}_H = 10$$

- UF_S : ce facteur d'incertitude est appliqué lorsque la dose critique a été déterminée à partir d'études subchroniques et que la VTR s'applique pour des expositions chroniques

$$\text{UF}_S = 3$$

Tableau 23 : VTR chronique pour la voie orale du diisobutylène

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Toxicité hépatique et rénale (augmentation du poids relatif du foie et des reins)	$\text{NOAEL} = 300 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	75	VTR = 0,8 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
Huntingdon Life Science (1997 a) : étude de toxicité répétée chez des rats Sprague Dawley	<u>Ajustement allométrique</u> $\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 61 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	$\text{UF}_A = 2,5$ $\text{UF}_H = 10$ $\text{UF}_S = 3$	Niveau de confiance : Moyen/faible

Le niveau de confiance global moyen/faible a été attribué à cette VTR chronique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : faible

L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait que deux études (Huntingdon Life Science 1997a,b).

- choix de l'effet critique et mode d'action : faible
Cet effet pourrait être un effet adaptatif (absence de lésions histopathologique aux niveaux hépatique et rénal)
- choix de l'étude clé : moyen
Il s'agit d'une étude qui suit les lignes directrices OCDE, et qui suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL). Cependant elle n'est pas décrite dans sa totalité sur le site de l'ECHA.
- choix de la dose critique : moyen
Un couple NOAEL/LOAEL a pu être déterminé.

3.2 VTR pour la voie respiratoire

3.2.1 VTR chronique

3.2.1.1 Choix de la dose critique et calcul de la VTR

En l'absence d'étude sur la voie respiratoire, une transposition voie à voie a été proposée pour construire une VTR chronique pour la voie respiratoire.

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$VTR_{\text{voie respiratoire}} = VTR_{\text{orale}} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3$$

Tableau 24 : VTR chronique pour la voie respiratoire du diisobutylène

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Toxicité hépatique et rénale (augmentation du poids relatif du foie et des reins) Huntingdon Life Science (1997 a) : étude de toxicité répétée chez des rats Sprague Dawley	NOAEL= 300 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 61 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 3 mg.m ⁻³ Niveau de confiance : Faible

Le niveau de confiance d'une VTR construite par extrapolation voie à voie basée sur l'hypothèse par défaut d'une absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal) est considéré comme faible.

3.3 Conclusion pour le Diisobutylène

Deux VTR chroniques (orale et respiratoire) ont été élaborées au regard des effets observés chez l'animal.

La VTR respiratoire a été construite par une transposition voie à voie (transposition voie orale à voie respiratoire).

4 VTR du Diisopropyl éther (DIPE)

4.1 Choix de l'effet critique et de l'étude clé

Le CES a identifié une étude de cancérogénicité réalisée chez le rat (voie orale) (Belpoggi *et al.*, 2002) outre l'étude subchronique par voie respiratoire chez le rat utilisée par le BE (Dalbey et Fueston, 1996).

4.1.1 Exposition par voie orale

4.1.1.1 Etude chronique

Après une exposition par gavage au DIPE pendant 78 semaines (1 fois par jour, 4 jours par semaine) chez les rats Sprague Dawley (100 animaux par dose et par sexe) aux doses de 0, 250 et 1 000 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, Belpoggi *et al.* (2002) ont observé une augmentation significative des tumeurs multiples, malignes ou bénignes chez les deux sexes dans des tissus distants du site d'administration (Belpoggi *et al.*, 2002). Les auteurs déclarent que leur étude est BPL.

Parmi les tumeurs malignes, les auteurs ont identifié une augmentation significative, dans les deux sexes de néoplasmes du système lymphoreticulaire (5).

Tableau 25 : Synthèse des effets cancérogènes du DIPE administré par gavage (Belpoggi *et al.*, 2002)

HEMOLYMPHORETICULAR NEOPLASIAS AND THEIR DISTRIBUTION BY HISTOCYTOTYPE																	
Group No.	Daily dose (mg/kg b.w. in olive oil)	Animals		Animals with hemolymphoreticular neoplasias													
				Total ^a		Lymphoblastic lymphoma ^b		Lymphoblastic leukemia		Lymphocytic lymphoma ^b		Lymphoimmunoblastic lymphoma ^b		Histiocytic sarcoma/ monocytic leukemia ^b		Myeloid leukemia ^b	
				No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
I	1,000	M	100	31	31.0 ^{**♦}	2	6.5	0	-	0	-	22	71.0	7	22.6	0	-
		F	100	41 ^c	41.0 ^{***♦♦}	1	2.4	0	-	1	2.4	33	80.5	8	19.5	0	-
		M+F	200	72 ^c	36.0	3	4.2	0	-	1	1.4	55	76.4	15	20.8	0	-
II	250	M	100	27	27.0 [♦]	2	7.4	0	-	0	-	20	74.1	5	18.5	0	-
		F	100	28	28.0 ^{***♦♦}	1	3.6	0	-	6	21.4	15	53.6	5	17.9	1	3.6
		M+F	200	55	27.5	3	5.5	0	-	6	10.9	35	63.6	10	18.2	1	1.8
III	0 ^d	M	100	17	17.0	0	-	0	-	0	-	13	76.5	3	17.6	1	5.9
		F	100	7	7.0	3	42.9	0	-	0	-	3	42.9	1	14.3	0	-
		M+F	200	24	12.0	3	12.5	0	-	0	-	16	66.7	4	16.7	1	4.2

^a Percentages refer to the number of animals at start

^b Percentages refer to the total number of animals bearing hemolymphoreticular neoplasias

^c Two animals bore a lymphoimmunoblastic lymphoma and histiocytic sarcoma

^d Olive oil alone

^{*} p<0.05 using χ^2 test

^{**} p<0.01 using χ^2 test

[♦] p<0.05 using Cochrane-Armitage test for dose-response relationship

^{♦♦} p<0.01 using Cochrane-Armitage test for dose-response relationship

4.1.2 Exposition par voie respiratoire

Dalbey et Fueston (1996), rapportent des résultats de deux études différentes par inhalation mais dans un même article.

4.1.2.1 Etude subchronique

Dans la première étude de toxicité subchronique, des rats Sprague-Dawley (14 par concentration et par sexe) ont été exposés à 0, 480, 3 300 et 7 100 ppm (0, 2 000, 13 800 et 29 700 mg.m⁻³) de DIPE (pureté 91-95%), 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 13 semaines. Cette étude se rapproche de la ligne directrice OCDE 413. Cette étude a été cotée 2 (selon la cotation de Klimish¹⁸) sur le site de l'ECHA. Les études (cotation 1 et 2) considérées comme valides.

Les auteurs ont décrit que le foie et les reins étaient les seuls organes pour lesquels des modifications statistiquement significatives (augmentation du poids absolu avaient été observées dans les deux sexes (Tableau 26). Des changements morphologiques étaient associés à ces augmentations du poids du foie, à savoir une hypertrophie des cellules hépatiques chez les mâles et les femelles à la plus forte concentration. Ils n'ont pas identifié d'autre effet néfaste sur d'autres fonctions ni organes.

Tableau 26 : Résumé des effets sur le foie et les reins observés après exposition au DIPE (Dalbey et Fueston, 1996)

		Concentration (ppm)			
		0	480	3300	7100
Rats mâles	Poids (g)	449 ± 34	466 ± 34*	482 ± 32*	462 ± 36
	Poids du foie (g)	12,3 ± 1,3	12,8 ± 1,5	15,4 ± 1,1*	16,9 ± 2,2*
	Poids des reins (g)	2,86 ± 0,36	2,96 ± 0,33	3,24 ± 0,27*	3,26 ± 0,43*
Rats femelles	Poids (g)	276 ± 24	280 ± 19*	276 ± 17	280 ± 17
	Poids du foie (g)	7,45 ± 1,09	7,64 ± 0,68	8,23 ± 1,16*	9,11 ± 0,81*
	Poids des reins (g)	1,81 ± 0,15	1,79 ± 0,11	1,90 ± 0,15	1,94 ± 0,18*

*p<0,05 ; (moyenne ± écart type)

4.1.2.2 Etude sur la reproduction et le développement

Dans la seconde étude (étude dite sur le développement), des rates Sprague-Dawley (22 par concentration) ont été exposées à 0, 430, 3 095 et 6 745 ppm (0, 1 800, 12 940 et 28 200 mg.m⁻³) de DIPE (pureté 91-95%), 6 heures par jour pendant la gestation (du jour 6 au jour 15). Les animaux ont été sacrifiés le jour 20. Cette étude se rapproche de la ligne directrice OCDE 413. Cette étude a été cotée 2 (selon la cotation de Klimish¹⁹) sur le site de l'ECHA. Les études (cotation 1 et 2) sont considérées comme valides.

¹⁸ Ce système repose sur une cotation des études expérimentales en tenant compte de la fiabilité des études (méthodes standardisées, BPL) et le détail de description de la publication.

¹⁹ Ce système repose sur une cotation des études expérimentales en tenant compte de la fiabilité des études (méthodes standardisées, BPL) et le détail de description de la publication.

Chez les mères, les auteurs ont identifié une diminution de poids corporel (mesuré entre les jours de gestation 6 à 16) aux concentrations 3 095 et 6 745 ppm.

Chez les fœtus, les auteurs ont observé des variations/malformations squelettiques se traduisant par une augmentation statistiquement significative du nombre de côtes rudimentaires (au niveau de la côte numéro 14) aux concentrations 3 095 et 6 745 ppm.

Aucune étude de toxicité chronique ou de cancérogénicité n'est disponible chez l'Homme comme chez l'animal par inhalation.

En conclusion,

- l'étude de toxicité subchronique (par inhalation) montre que le DIPE peut entraîner une toxicité hépatique et rénale. Le CES propose de construire une VTR chronique pour la voie respiratoire à partir des résultats l'étude de Dalbey et Fueston (1996) ;
- l'étude sur le développement (par inhalation) montre que le DIPE peut entraîner des malformations chez le fœtus (Dalbey et Fueston, 1996). Le CES propose de construire une VTR reprotoxique pour la voie respiratoire à partir des résultats présentés ;
- l'étude de cancérogenèse (par voie orale) a montré que le DIPE pouvait entraîner des tumeurs du système lymphoréticulaire. Aucune étude de génotoxicité (*in vivo* comme *in vitro*) n'a pu être retrouvée pour le DIPE. Dans une logique protectrice préconisée par les recommandations de l'Anses (Anses, 2010). Le CES propose de construire une VTR sans seuil pour les voies orales et respiratoires pour les effets cancérogènes induits par cette substance

4.2 VTR chronique

4.2.1 VTR chronique pour la voie respiratoire

Le CES a construit une VTR chronique pour la voie respiratoire basée sur l'augmentation du poids du foie est associée à une hypertrophie des cellules hépatiques chez les mâles et les femelles.

4.2.1.1 Choix de la dose critique

Le Tableau 29 résume les effets sur les reins et le foie retrouvés dans l'étude de Dalbey et Fueston (1996).

Pour la construction d'une BMD, selon les recommandations de l'EFSA (EFSA 2009) (pour un effet critique portant l'augmentation et/ou la diminution du poids d'un organe, un BMR de 5% par défaut est préconisé pour les données continues (cf. chapitre 5.2 «*For continuous data the BMR could be defined in various ways. The recommended default value is a BMR of 5%*»).

Lors de la détermination de la BMDL, plusieurs modèles mathématiques ont été testés. La méthode d'ajustement du modèle aux données est le maximum de vraisemblance. Le niveau de confiance associé à la BMDL est de 90% (one side).

Dans le cas du DIPE, le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales est le modèle Hill. Les valeurs des **BMC** (ou CED) et **BMCL** (ou CEDL) sont respectivement de **1 870** et de **1 461 ppm**.

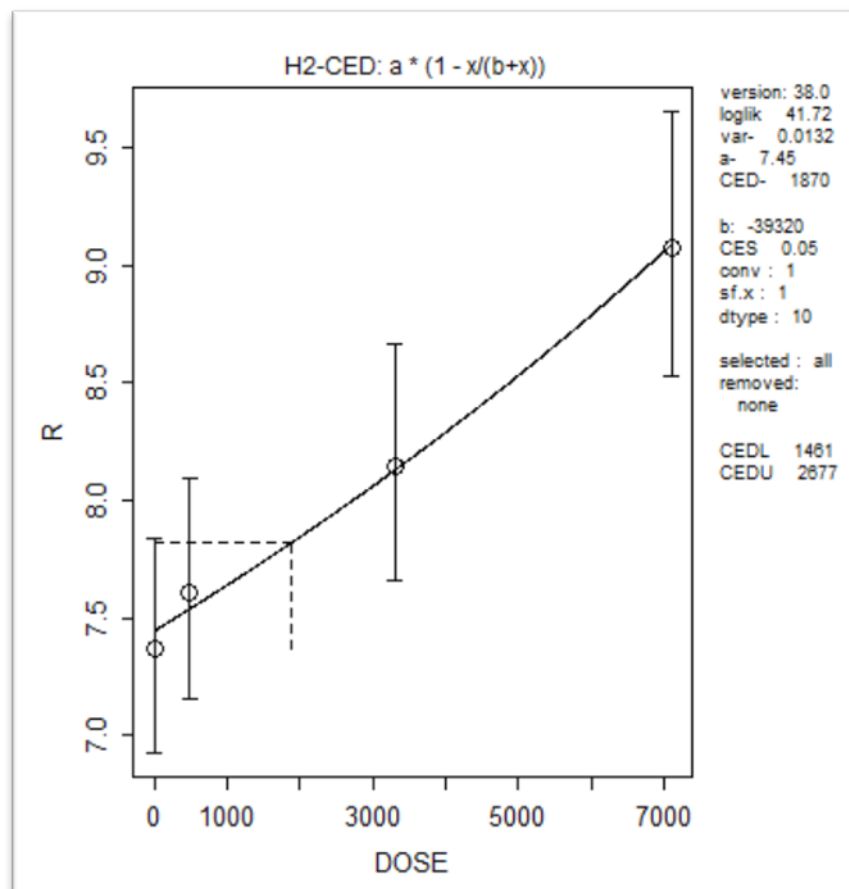


Figure 2 : Modélisation de l'augmentation du poids du foie chez les femelles d'après l'étude de Dalbey et Fueston (1996)

4.2.1.2 Ajustements

- Ajustement allométrique

L'objectif est de réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèce afin de déterminer une concentration équivalente humaine (HEC). Pour la voie respiratoire, l'US EPA a développé différents ajustements dosimétriques qui sont réalisés en fonction des propriétés physicochimiques de la substance inhalée (particules ou gaz, fortement solubles ou peu solubles dans l'eau) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à différentes équations (US EPA, 1994).

D'après les recommandations de l'US EPA (1994), le DIPE doit être considéré comme un gaz de catégorie 3 (toxicité systémique). Ainsi, l'ajustement allométrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 3 est le suivant :

$$BMC_{5\%L_{90\%}}^{HEC} = BMC_{5\%L_{90\%}} \times (Hb/g)_{rat} / (Hb/g)_{Homme}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partage sang/air du DIPE

HEC : human equivalent concentration

Les coefficients de partage sang/air du DIPE pour l'Homme et le rat n'étant pas connus, l'US EPA propose de retenir la valeur par défaut de 1. En effet, les données de la littérature indiquent que le coefficient de partage sang/air chez l'animal est plus élevé que celui chez l'Homme (US EPA, 1994).

- Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 6 heures par jour, 5 jours sur 7. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$BMC_{5\%L_{90\%}}^{HEC ADJ} = BMC_{5\%L_{90\%}}^{HEC} \times (6/24) \times (5/7) = 261 \text{ ppm}$$

4.2.1.3 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $BMD_{5\%L_{90\%}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$UF_{A-TD} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$UF_H = 10$$

- UF_S : ce facteur d'incertitude est appliqué lorsque la dose critique a été déterminée à partir d'études subchroniques et que la VTR s'applique pour des expositions chroniques

$$UF_S = 3$$

Tableau 27 : VTR chronique par voie respiratoire pour le diisopropyl éther

Effet critique	Concentration critique	UF	VTR
Toxicité hépatique Dalbey et Fueston 1996 : étude 13 semaines chez des rats Sprague Dawley	BMC _{5%} L _{90%} = 1 461 ppm	75	VTR = 14,5 mg.m ⁻³ soit 3,5 ppm Niveau de confiance Moyen
	<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1 461 ppm	UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	
	<u>Ajustement temporel</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC ADJ = 261 ppm		

Le niveau de confiance global moyen a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : faible
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait qu'une étude.
- choix de l'effet critique et mode d'action : moyen
L'augmentation du poids du foie est associée à une hypertrophie des cellules hépatiques chez les mâles et les femelles.
- choix de l'étude clé : moyen.
Cette étude a été cotée 2 (selon la cotation de Klimish²⁰) sur le site de l'ECHA. Les études (cotation 1 et 2) sont considérées comme valides.
- choix de la dose critique : fort
Une modélisation de la relation dose réponse a pu être réalisée et une BMC a pu être déterminée.

4.2.2 VTR chronique pour la voie orale

En l'absence d'étude sur la voie orale, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR chronique pour la voie orale.

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La concentration critique établie chez l'Homme

²⁰ Ce système repose sur une cotation des études expérimentales en tenant compte de la fiabilité des études (méthodes standardisées, BPL) et le détail de description de la publication.

est convertie en dose critique en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$VTR_{\text{voie orale}} = VTR_{\text{voie respiratoire}} \times 20 \text{ m}^3 / 70 \text{ kg}$$

Tableau 28 : VTR par voie orale pour le diisopropyl éther

Effet critique	Concentration critique	UF	VTR
Toxicité hépatique Dalbey et Feuston 1996 : étude 13 semaines chez des rats Sprague Dawley	BMC _{5%} L _{90%} = 1 461 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1 461 ppm	75	VTR = 4 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
	<u>Ajustement temporel</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC ADJ = 261 ppm <u>Extrapolation voie à voie</u>	UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S =3	Niveau de confiance faible

Le niveau de confiance d'une VTR construite par extrapolation voie à voie basée sur l'hypothèse par défaut d'une absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal) est considéré comme faible.

4.3 VTR basée sur les effets sur le développement

Le CES rappelle qu'une VTR pour un effet sur le développement s'applique pour des durées d'exposition d'une journée (Afsset, 2007).

4.3.1 VTR pour la voie respiratoire

4.3.1.1 Choix de la dose critique

Le Tableau 299 résume les variations/malformations squelettiques (augmentation significative du nombre de côtes rudimentaires) retrouvées dans l'étude de Dalbey et Fueston (1996).

Tableau 29 : Relation entre la concentration d'exposition et l'augmentation nombre de cotes rudimentaires chez les fœtus et les portées Dalbey et Fueston (1996)

	Concentration d'exposition (ppm)			
	0	430	3 095	6 745
Nombre de fœtus atteints	4	6	20	33
Nombre de fœtus examinés	309	334	312	345
Nombre de portées atteintes	1	4	7	13
Nombre de portées examinées	20	21	21	22

Selon les lignes directrices de l'OCDE (ligne directrice 414 « Etude de la toxicité pour le développement prénatal »), le CES considère la portée comme unité pour l'analyse des résultats.



4.3.1.2 Calcul de la dose critique

La relation entre l'augmentation de portées atteintes et la concentration journalière d'exposition à au DIPE (Tableau 29) a été modélisée avec le logiciel BMDS 2.1.1 de l'US EPA pour l'élaboration d'une Benchmark Concentration (BMC).

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Ce niveau ou ce pourcentage est appelé BMR pour Benchmark Response level. C'est majoritairement la BMCL, autrement dit la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMC, qui est considérée comme dose repère. Les données expérimentales ont été ajustées par les modèles développés par l'US EPA pour des données dichotomiques (modèles gamma, logistique, multi-étapes, probit, Weibull,...)²¹. Le modèle log logistique a été retenu pour l'estimation de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% d'une dose correspondant à une augmentation de 5% de la réponse²² par rapport au groupe non exposé (Figure 2).

Les concentrations critiques calculées sont :

$$\mathbf{BMC_{5\%} = 311 \text{ ppm}}$$

$$\mathbf{BMC_{5\%} L_{95\%} = 173 \text{ ppm}}$$

²¹ L'identification du modèle le plus adapté passe par la détermination à l'aide du logiciel de deux variables :
- La p-value : Lorsque cette dernière est supérieure à 0,1, le modèle utilisé est considéré non significativement différent de la réalité ; le modèle est donc adapté aux données.
- L'AIC (Akaike Information Criterion) est un critère permettant de sélectionner le modèle le plus adapté pour la détermination de la BMD ou de la BMC, le modèle présentant l'AIC le plus faible étant retenu.

²² Le seuil de 5% est recommandé par l'Anses pour la construction des VTR sur des effets sur le développement.

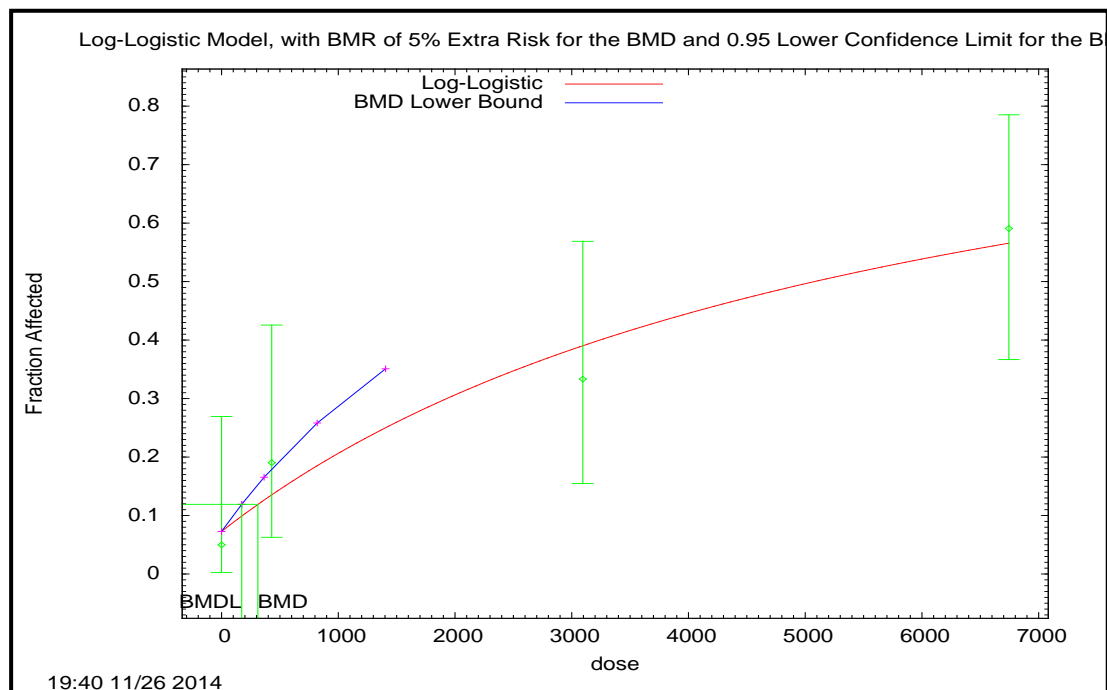


Figure 3 : Courbe concentration réponse à partir de l'étude Dalbey et Feuston (1996)

4.3.1.3 Ajustements

- Ajustement allométrique

L'objectif est de réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèce afin de déterminer une concentration équivalente humaine (HEC). Pour la voie respiratoire, l'US EPA a développé différents ajustements dosimétriques qui sont réalisés en fonction des propriétés physicochimiques de la substance inhalée (particules ou gaz, fortement solubles ou peu solubles dans l'eau) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à différentes équations (US EPA, 1994).

D'après les recommandations de l'US EPA (1994), le DIPE doit être considéré comme un gaz de catégorie 3 (toxicité systémique). Ainsi, l'ajustement allométrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 3 est le suivant :

$$BMC_{5\%} L_{95\%} HEC = BMC_{5\%} L_{95\%} animal \times (Hb/g)_{rat} / (Hb/g)_{Homme}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partage sang/air du DIPE

HEC : human equivalent concentration

Les coefficients de partage sang/air du DIPE pour l'Homme et le rat n'étant pas connus, l'US EPA propose de retenir la valeur par défaut de 1. En effet, les données de la littérature indiquent que le coefficient de partage sang/air chez l'animal est plus élevé que celui chez l'Homme (US EPA, 1994).

- Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 6 heures par jour. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{BMC}_{5\%} \text{ L}_{95\% \text{ HED ADJ}} = \text{BMC}_{5\%} \text{ L}_{95\% \text{ HED}} \times (6/24) = 43,25 \text{ ppm}$$

4.3.1.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $\text{BMC}_{5\%} \text{ L}_{95\% \text{ HED}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$\text{UF}_{A\text{-TD}} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$\text{UF}_H = 10$$

Tableau 30 : VTR reprotoxique par voie respiratoire pour le diisopropyl éther

Effet critique	Concentration critique	UF	VTR
Augmentation du nombre de côtes rudimentaires Dalbey et Feuston 1996 : étude sur le développement (exposition du 6 ^{ème} au 15 ^{ème} jour de la gestation) chez des rats Sprague Dawley	$\text{BMC}_{5\%} \text{ L}_{95\%} = 173 \text{ ppm}$	25 $\text{UF}_A = 2,5$ $\text{UF}_H = 10$	VTR = 7,2 mg.m⁻³ soit 1,73 ppm
	<u>Ajustement allométrique</u> $\text{BMC}_{5\%} \text{ L}_{95\% \text{ HEC}} = 173 \text{ ppm}$		Niveau de confiance Moyen
	<u>Ajustement temporel</u> $\text{BMC}_{5\%} \text{ L}_{95\% \text{ HED ADJ}} = 43,25 \text{ ppm}$		

Le niveau de confiance global moyen a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : faible
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait qu'une étude.
- choix de l'effet critique et mode d'action : moyen
Cet effet est un effet tératogène bien décrit par les auteurs.
- choix de l'étude clé : moyen

- Cette étude a été cotée 2 (selon la cotation de Klimish²³) sur le site de l'ECHA. Les études (cotation 1 et 2) sont considérées comme valides.
 - choix de la dose critique : moyen
- Une modélisation de la relation dose réponse a pu être réalisée et une BMD a pu être déterminée.

4.3.2 VTR pour la voie orale

En l'absence d'étude sur la voie orale, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR sur le développement pour la voie orale.

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La concentration critique établie chez l'Homme est convertie en dose critique en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$\text{VTR}_{\text{voie orale}} = \text{VTR}_{\text{voie respiratoire}} \times 20 \text{ m}^3 / 70 \text{ kg}$$

Tableau 31 : VTR reprotoxique par voie orale pour le diisopropyl éther

Effet critique	Concentration critique	UF	VTR
Augmentation du nombre de côtes rudimentaires Dalbey et Feuston 1996 : étude sur le développement (exposition du 6 ^{ème} au 15 ^{ème} jour de la gestation) chez des rats Sprague Dawley y	BMC _{5%} L _{95%} = 173 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{95%} HEC = 173 ppm	25	VTR = 2 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹
	<u>Ajustement temporel</u> BMC _{5%} L _{95%} HED ADJ = 43,25 ppm Extrapolation voie à voie	UF _A = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance Faible

Le niveau de confiance d'une VTR construite par extrapolation voie à voie basée sur l'hypothèse par défaut d'une absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal) est considéré comme faible.

²³ Ce système repose sur une cotation des études expérimentales en tenant compte de la fiabilité des études (méthodes standardisées, BPL) et le détail de description de la publication.

4.4 VTR cancérogène

4.4.1 VTR cancérogène pour la voie orale

4.4.1.1 Choix de la dose critique

En l'absence d'études sur la génotoxicité du DIPE, par principe de précaution, le CES considère cette substance comme un cancérogène possiblement génotoxique donc sans seuil d'effet toxique. Selon les recommandations de l'Anses, le CES propose une VTR sans seuil pour les effets cancérogènes du DIPE.

Le Tableau 32 résume l'augmentation du nombre de femelles développant néoplasmes du système lymphoréticulaire.

Tableau 32 : Relation entre la dose d'exposition et le nombre d'animaux atteints de néoplasmes du système lymphoreticulaire

	Doses d'exposition (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)		
	0	250	1 000
Nombre d'animaux traités (femelles)	100	100	100
Nombre d'animaux atteints de néoplasmes du système lymphoreticulaire (femelles)	7	28	41

4.4.1.2 Calcul de la dose critique

La relation entre l'augmentation des néoplasmes du système lymphoreticulaire et la dose journalière d'exposition au DIPE (Tableau 32) a été modélisée avec le logiciel BMDS 2.1.1 de l'US EPA : élaboration d'une Benchmark Dose (BMD).

Le modèle log logistique a été retenu pour l'estimation de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% d'une dose correspondant à une augmentation de 10% de la réponse²⁴ par rapport au groupe non exposé (Figure 4).

Les doses critiques calculées sont :

$$\begin{aligned} \text{BMD}_{10\%} &= 163 \text{ mg.kg.pc}^{-1}.\text{j}^{-1} \\ \text{BMD}_{10\%} \text{ L}_{95\%} &= 114 \text{ mg.kg.pc}^{-1}.\text{j}^{-1} \end{aligned}$$

²⁴ Le seuil de 10% est recommandé par l'Anses pour la construction des VTR sur des effets cancérogènes.

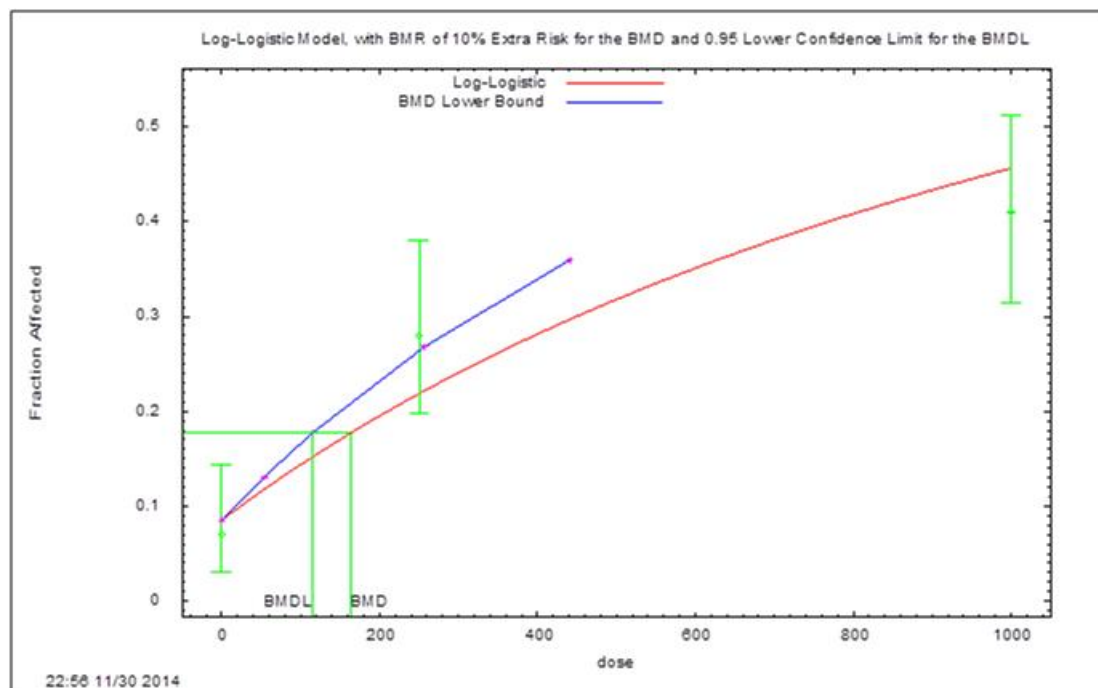


Figure 4 : Courbe dose réponse obtenue à partir de l'étude de Belpoggi *et al.* (1988)

4.4.1.3 Ajustements

- Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 4 jours par semaine pendant 78 semaines au lieu d'une durée habituelle de 104 semaines (deux ans). Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{BMD}_{10\% \text{ L}_{95\% \text{ ADJ}}} = 114 \times (4/7) \times (78/104) = 49 \text{ mg.kg.pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

- Ajustement allométrique

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante²⁵ :

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids homme}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des rats (femelle) pris par défaut est de 338 g (US EPA 1998). Celui utilisé pour l'Homme est de 70 kg.

Soit une dose critique $\text{BMD}_{10\% \text{ L}_{95\% \text{ ADJ HED}}} = 13 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$

²⁵ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

4.4.1.4 Construction de la VTR sans seuil

Après ajustement dosimétrique (détermination de la dose équivalente humaine), l'extrapolation linéaire à partir d'une $BMD_{10\%L_{95\%}}$ (Benchmark Dose) conduit à la détermination d'une pente correspondant à l'excès de risque unitaire.

Le calcul de la pente ou excès de risque unitaire se calcule suivant la formule :

$$\text{Pente} = \text{BMR}/\text{BMD}_{10\%L_{95\%}} \text{ ADJ HED} = 7,8 \cdot 10^{-3} (\text{mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$$

Le Tableau 33 résume la détermination de la VTR sans seuil d'effet par voie orale du DIPE.

Tableau 33 : VTR cancérigène par voie orale du DIPE

Effet critique	Dose critique	VTR
Néoplasmes du système lymphoréticulaire (femelle) Belpoggi <i>et al.</i> , 2002 : étude de cancérogénèse chez le rat Sprague Dawley	A partir des données chez l'animal $BMD_{10\%L_{95\%}} = 114 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Ajustement temporel</u> $BMD_{10\%L_{95\%}} \text{ ADJ} = 49 \text{ mg.kg.pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	Après extrapolation linéaire à l'origine $ERU = 7,8 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g.kg p.c.}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$ $13 \mu\text{g.kg.p.c.}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour un risque de 10^{-4} $1,3 \mu\text{g.kg.p.c.}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour un risque de 10^{-5} $0,13 \mu\text{g.kg.p.c.}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour un risque de 10^{-6}
	<u>Ajustement allométrique</u> $BMD_{10\%L_{95\%}} \text{ ADJ HED} = 13 \text{ mg.kg p.c.}^{-1}.\text{j}^{-1}$	Niveau de confiance Faible

ADJ : ajustement au temps (4 jours sur 7) ; HED : dose équivalente chez l'Homme ; ERU : excès de risque unitaire

Le niveau de confiance global faible a été attribué à cette VTR cancérigène par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : faible
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait qu'une seule étude de cancérogénicité. Il n'y a pas d'étude de génotoxicité.
- choix de l'effet critique et mode d'action : faible
L'augmentation du nombre d'animaux développant de néoplasmes du système lymphoréticulaire n'a été observée que dans une seule étude chez une seule espèce. De plus, le mécanisme d'action n'est pas connu.
- choix de l'étude clé : moyen
Les auteurs déclarent que leur étude suit les BPL.
- choix de la dose critique : faible
Dans cette étude, seules deux doses ont été testées. De plus, le CES a décidé d'établir une VTR sans seuil comme le préconise la méthode Anses puisque la génotoxicité de ce produit est inconnue.

4.4.2 VTR cancérigène pour la voie respiratoire

En l'absence d'étude sur la voie respiratoire, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR cancérigène pour la voie respiratoire.

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$\text{BMD}_{10\%L_{95\% \text{ ADJ HED}}} = 13 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3$$

Tableau 34 : VTR cancérigène par voie respiratoire du DIPE

Effet critique	Dose critique	VTR
Néoplasmes du système lymphoréticulaire (femelle) Belpoggi <i>et al.</i> , 1988 : étude de cancérogénèse chez le rat Sprague Dawley	A partir des données chez l'animal $\text{BMD}_{10\%L_{95\%}} = 114 \text{ mg.kg pc}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ <u>Ajustement temporel</u> $\text{BMD}_{10\% L_{95\% \text{ ADJ}}} = 49 \text{ mg.kg.pc}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$	Après extrapolation linéaire à l'origine ERU = 2,2 10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹ 45 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁴ 4,5 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁵ 0,45 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁶
	<u>Ajustement allométrique</u> $\text{BMD}_{10\%L_{95\% \text{ ADJ HED}}} = 13 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ <u>Transposition voie à voie</u> $\text{BMC}_{10\%L_{95\% \text{ ADJ HED}}} = 45 \text{ mg.m}^{-3}$	Niveau de confiance Faible

ADJ : ajustement au temps (4 jours sur 7) ; HED : dose équivalente chez l'Homme ; ERU : excès de risque unitaire

Le niveau de confiance d'une VTR construite par extrapolation voie à voie basée sur l'hypothèse par défaut d'une absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal) est considéré comme faible

4.5 Conclusion

Six VTR (orales et respiratoires) ont été élaborées au regard des effets observés chez l'animal :

- deux VTR chroniques (orale et respiratoire) à seuil basées sur la toxicité hépatique ;
- deux VTR (orale et respiratoire) sans seuil basées sur les effets cancérigènes (en lien avec un mécanisme d'action génotoxique supposé) ;
- deux VTR reprotoxiques (orale et respiratoire) basées sur les effets sur le développement.

5 VTR du 4-vinylcyclohexène (4-VCH)

En 2012, le RAC a proposé une classification comme cancérogène de catégorie 2 pour le 4-vinylcyclohexène ou 4-VCH. Dans son rapport, il analyse l'ensemble des données bibliographiques disponibles pour le 4-VCH.

5.1 Choix de l'effet critique et de l'étude clé

Le CES « substances » a identifié plusieurs études (subchroniques et chroniques) pour ce composé.

5.1.1 Exposition par voie orale

5.1.1.1 Etudes subchroniques

Le NTP (1986) a réalisé en amont de son étude de cancérogénèse des études 13 semaines chez le rat Fisher et la souris B6C3F1 (voie orale). Ce sont des études qui permettent de déterminer la plage de doses à tester pour l'étude de cancérogénèse. Ces études se suivent les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL).

Des rats Fisher (10 animaux par dose et par sexe) ont été exposés par gavage au 4-VCH pendant 13 semaines (5 jours par semaine) aux doses de 0, 50, 100, 200, 400 et 800 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Les auteurs ont observé une toxicité rénale chez les mâles (dégénération des tubules proximaux) et une inflammation de la sous muqueuse de l'estomac (partie non glandulaire) chez les mâles et les femelles (LOAEL = 400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹).

Des souris B6C3F1 (10 animaux par doses et par sexe) ont été exposées par gavage au 4-VCH pendant 13 semaines (5 jours par semaine) aux doses de 0, 75, 150, 300, 460 et 1 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹. Les auteurs ont observé une toxicité ovarienne (à travers une diminution de follicules primaires et matures, LOAEL = 1 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.) et une inflammation de l'estomac chez les mâles et les femelles.

5.1.1.2 Etudes de génotoxicité

Le RAC a revu l'ensemble des études de génotoxicité (*in vitro*, *in vivo*), ces données sont résumées dans le tableau ci-dessous (tableau 35).

Tableau 35 : Résumé des études de génotoxité (*in vitro*, *in vivo*) pour le 4-VCH (RAC, 2012)

Method	Results	Remarks	Reference
<p>~ OECD guideline 471</p> <p><i>S. typhimurium</i> TA 1535, TA 1537, TA 98 and TA 100</p> <p>with and without metabolic activation (rat or hamster S9 fractions)</p> <p>Preincubation protocol</p> <p>0, 3.3, 10, 33, 100, 333, 1,000 µg/plate in DMSO</p>	<p>VCH did not produce increase in revertants in strains TA100, TA1535, TA1537, and TA98, with or without metabolic activation (rat or hamster S9), when tested according to the pre-incubation protocol. Doses up to 1000 µg per plate were used for each experiment, except without metabolic activation where the highest dose studied was 333 µg per plate (no explanation given in the NTP study report). Cytotoxicity was observed in TA100 strain incubated with 1000 µg per plate, with rat S9.</p>	<p>This study is considered as valid.</p> <p>VCH was not mutagenic in this bacterial reverse mutation assay.</p>	NTP, 1986
<p>Mouse lymphoma assay</p> <p>(without S9: 0, 20, 30, 40, 50, 60, 80, and 120 µg/mL in ethanol; with S9: 0, 30, 40, 50, 60, 80, 100 and 120 µg/mL in ethanol)</p> <p>Positive control: MMS (without S9) and 3-MC (with S9)</p>	<p>Without S9 (duplicate): Negative Cytotoxicity : 120 µg/mL</p> <p>With S9: 1st and 2nd experiment: equivocal; 3rd experiment: positive</p>	Only tabulated results available on the NTP website	NTP, undated
<p>~ OECD guideline 474</p> <p>Crl:CD BR (Sprague-Dawley) rats</p> <p>Male and female</p> <p>5/sex/group</p> <p>Inhalation study (vapors)</p> <p>2-day study: 0, 500, 1000, 2000 ppm VCH;</p> <p>13-week-study: 0, 250, 1000, 1500 ppm VCH</p> <p>2-day study: 6 h/ day on two consecutive days</p> <p>13-week study: 6 h/day, 5 days/week</p>	<p>VCH did not induce micronuclei in rats after a 2-day or a 13-week period exposure.</p> <p>Toxicity: 2-day study: Clinical signs of toxicity were noted in rats and included decreased responsiveness to sound stimulus, inactivity, and narcosis/sleep induction during both exposures in each VCH treatment group. Animal arousal occurred within approximately 10 minutes after cessation of exposure. No clinical signs of toxicity were noted in rats prior to each exposure or during the recovery period. In rats, body weights for the 2000 ppm VCH-exposed group were significantly lowered at both the 24- and 48-h post-exposure time points compared to the controls (102 and 70%, respectively) .</p>	<p>Only 1000 PCE per animal were scored (the actual OECD 474 TG recommends to score a minimum of 2000 immature erythrocytes per animal for the incidence of micronucleated immature erythrocytes)</p> <p>No individual data available</p> <p>No historical negative/positive control data</p>	Bevan, 2001

	<p>13-week study:</p> <p>There was no compound-related mortality in rats exposed to VCH. Clinical signs of toxicity were evident in male and female rats in all VCH-exposure groups. The most prevalent signs were lethargy, clear discharge from the mouth, and stained fur. Body weight gain for male rats exposed to 1000 ppm and 1500 ppm VCH were significantly lower from controls (12-15% reduction).</p>		
<p>~ OECD guideline 474 B6C3F1/CrBR mice Male and female 5/sex/group Inhalation study (vapors) 2-day study: 0, 250, 500, 1000 ppm VCH; 13-week-study: 0, 50, 250, 1000 ppm VCH 2-day study: 6 h/ day on two consecutive days 13-week study: 6 h/day, 5 days/week</p>	<p>VCH did not induce micronuclei in mice after a 2-day or a 13-week period exposure. However, the mean MN/PCE/1000 PCE for mice exposed to 500 ppm for 2 days was twice as much the control value at 24-h post-exposure sampling time.</p> <p>Toxicity: 2-day study: Clinical signs of toxicity were not observed in mice. Body weight gain for the 1000 ppm VCH-exposed male mice were significantly less than controls at the 24-h post-exposure timepoint. I</p> <p>13-week study: There was significant compound-related mortality in mice exposed to VCH. All of the male mice (10/10) and 5/10 female mice exposed to 1000 ppm VCH died on test days 11 or 12. Three additional high-dose females died prior to study completion. No clinical signs of toxicity were observed in the 250 ppm VCH-exposed mice; however, tremors and lethargy were observed in one male and two female 50 ppm VCH-exposed mice. Body weight gain for female mice exposed to 250 ppm VCH were significantly lower from controls (82% reduction)</p>	<p>No toxicity observed in female mice in the 2-d study. Due to the high mortality and the high reduction of body weight gain in the high-dose female mice, 250 ppm is considered as the MTD in the 13-week study.</p> <p>1,3-butadiene (1000 ppm) was used as a concurrent positive control substance (no historical data)</p> <p>Only 1000 PCE per animal were scored (the actual OECD 474 TG recommends to score a minimum of 2000 immature erythrocytes per animal for the incidence of micronucleated immature erythrocytes)</p> <p>No individual data available</p> <p>No historical negative/positive control data</p>	<p>Bevan, 2001</p>

Le RAC estime que les données disponibles indiquent un faible niveau de préoccupation (« low concern ») pour la génotoxicité du 4-VCH. Il note cependant que le principal métabolite du 4-VCH, le 4 vinyl-cyclohexène diépoxyde (VCD) est positif dans de nombreux tests de génotoxicité *in vitro*. Toujours selon le RAC, le mécanisme d'action par lequel le 4-VCH induirait la cancérogénèse passerait par une déplétion des ovocytes conduisant à des tumeurs ovariennes. Le RAC n'écarte cependant pas qu'un mécanisme génotoxique pourrait également induire ces tumeurs. Les résultats des études de génotoxicité (*in vivo* comme *in vitro*) sur le 4-VCH étant équivoques, selon les recommandations de l'Anses (Anses 2010), le CES propose de construire une VTR sans seuil pour les effets cancérogènes induits par cette substance.

5.1.1.3 Etudes de cancérogénèse

Le CES a identifié une étude de cancérogénicité réalisée chez le rat Fisher et la souris B6C3F1 (voie orale) (NTP, 1986 ; Collins *et al.*, 1987).

Après une exposition par gavage au 4-VCH pendant 103 semaines (5 jours par semaine) de rats Fisher (50 animaux par dose et par sexe), les auteurs ont observé une très forte mortalité chez les mâles (17/50, 37/50 et 45/50) et chez les femelles (10/50, 22/50 et 36/50) aux doses de 0, 250 et 400 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Les observations et analyses histopathologiques n'ont pas permis de mettre en évidence une cause à cette mortalité. Même si l'interprétation des résultats est statistiquement impossible, des tumeurs ont été observées chez les deux sexes (notamment des adénomes et carcinomes de la glande clitorienne).

Chez les souris B6C3F1, après une exposition par gavage au 4-VCH pendant 103 semaines (5 jours par semaine) (50 animaux par dose et par sexe) à 0, 250 et 400 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, il a été également observé une forte mortalité chez les mâles (13/50, 11/50 et 43/50) et chez les femelles (10/50, 11/50 et 33/50). Les observations et analyses histopathologiques n'ont pas permis de mettre en évidence une cause à cette mortalité. Cependant, la survie étant comparable dans les groupes traités et témoins des souris femelles, il a été possible d'évaluer le potentiel carcinogène du 4-VCH.

Les auteurs ont observé une augmentation statistiquement significative du nombre de carcinomes ovariens ainsi que des tumeurs de cellules de la granulosa ovarienne (LOAEL = 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹).

5.1.1.4 Etudes sur la reproduction et le développement

Dans une étude sur le développement sur deux générations, Grizzle *et al.* (1994) ont exposé des souris CD-1 par gavage à 0, 100, 250 et 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de 4-VCH (40 par sexe pour le groupe témoin et 20 par sexe et par dose pour les groupes traités) pendant 14 semaines (F0). Cette étude suit les bonnes pratiques de laboratoire. Les auteurs n'ont pas identifié d'effet significatif altérant la fertilité (les paramètres recherchés étaient le pourcentage de fertilité, le nombre de portées par couple, le nombre de nouveaux-nés vivants par portée, le poids de naissance de nouveaux nés).

Ils ont ensuite exposé la progéniture (F1) ²⁶14 semaines (à partir de l'âge de 22 jours) à 0, 100, 250, et 500 mg.kg⁻¹ de 4-VCH (20 par sexe et par dose). Les auteurs ont observé une diminution du poids corporel chez les deux sexes (entre le jour de naissance 77 et 117), ainsi qu'une augmentation relative du poids du foie (LOAEL = 500 mg.kg⁻¹). Sur les paramètres de la reproduction, les auteurs ont noté une diminution des follicules en développement et follicules antraux. Chez les mâles, les auteurs ont montré une diminution de la concentration spermatique (LOAEL = 500 mg.kg⁻¹). Les auteurs concluent qu'à 500 mg.kg⁻¹ le 4-VCH est toxique pour les follicules ovariens et aurait un effet léger sur la spermatogénèse mais sans altérer la fertilité.

5.1.2 Exposition par voie respiratoire

5.1.2.1 Etudes subchroniques

Bevan *et al.* (1996) ont réalisé une étude de toxicité par inhalation (étude toxicité subchronique). Cette étude suit les principes de bonnes pratiques de laboratoire.

Des rats Sprague-Dawley (10 par concentration et par sexe) ont été exposés à 0, 250, 1 000 et 1 500 ppm de 4-VCH, 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 13 semaines. Les auteurs ont observé une léthargie chez les animaux des deux sexes, une augmentation du poids du foie et des reins dans les deux sexes. Ils ont également identifié une atrophie ovarienne avec une diminution du nombre de corps jaunes.

Des souris B6C3F1 (10 par concentration et par sexe) ont été exposées à 0, 50, 250, et 1 000 ppm (0, 0,22, 1,11 et 4,42 mg.L⁻¹) de 4-VCH, 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 13 semaines. Les auteurs ont décrit qu'une léthargie chez les animaux des deux sexes, une atrophie testiculaire, une atrophie de la rate chez les femelles. Ils ont également retrouvé une atrophie ovarienne caractérisée par une diminution statistiquement significative (LOAEC à 1 000 ppm) du nombre de follicules (à tous les stades de développement).

5.1.3 Exposition par voie intrapéritonéale

D'autres études ont montré que le 4-VCH avait comme organe cibles l'ovaire, et ceci quelque soit la voie d'exposition. A titre d'exemple, l'étude de Hooser *et al.* (1994)²⁷ (étude par voie intrapéritonéale) dans laquelle des souris B6C3F1 (10 par groupe) ont été exposées à 800 µg.kg⁻¹.j⁻¹ pendant 30 jours. Aux jours 30, 60, 120, 240 et 360, des femelles ont été sacrifiées pour un prélèvement des ovaires. Les auteurs ont conclu que l'administration de 4-VCH provoque des dommages irréversibles sur l'ovaire, puisque aucun ovocyte (quelque soit le stade de développement) n'a été observé à 360 jours (soit 330 jours après la fin de l'exposition). Comme conséquence de cette perte de follicule, une augmentation de FSH plasmatique a été mesurée au même moment. En effet, la perte des follicules primordiaux et primaires entraîne la perte de rétrocontrôle négatif sur la FSH.

²⁶ La progéniture a également été exposée pendant la période de lactation au 4-VCH *via* le lait maternel.

²⁷ Cette étude suit les bonnes pratiques de laboratoire.

En conclusion, les ovaires semblent donc être l'organe cible, même si l'effet n'est observé que chez la souris. En effet :

- les études subchronique (NTP, 1989 ; Bevan *et al.*, 1996) ont montré que le 4-VCH administré par gavage ou par voie respiratoire peut entraîner une inflammation de l'estomac, une atrophie ovarienne. Le mécanisme d'action supposé pour cet effet serait une métabolisation du 4-VCH en composés époxydes et/ou diépoxyde (4 vinyl-cyclohexene diépoxyde ou 4-VCD) au niveau hépatique. Après avoir été distribué *via* la circulation sanguine au niveau des ovaires, le 4-VCD entraîne la destruction des follicules primordiaux et primaires.
- l'étude de cancérogenèse par voie orale a montré que le 4-VCH pouvait entraîner des tumeurs ovariennes.

Le CES propose de construire une VTR chronique pour les voies orale et respiratoire, mais également une VTR pour les effets cancérogènes pour les voies orale et respiratoire induits par cette substance.

Le 4-VCH est classé comme étant un cancérogène possible pour l'Homme (2B) par le Centre international de recherche sur le cancer (IARC, 1997). Le CES note que les dernières conclusions du RAC propose une classification en cancérogène 2 (2012) et **n'a pas proposé de classification pour la génotoxicité.**

5.2 VTR chronique à seuil

5.2.1 VTR chronique pour la voie respiratoire

5.2.1.1 Choix de la dose critique

L'étude de Bevan *et al.* (1996) est la seule étude disponible pour établir une VTR sur les effets pour une exposition par voie respiratoire.

Les auteurs ont mis en évidence une augmentation des atrophies ovariennes chez des souris B6C3F1 lors d'une exposition pendant 13 semaines au 4-VCH (Tableau 36).

Tableau 36 : Relation entre concentrations en 4-VCH et atrophie ovarienne chez la souris

	Concentrations d'exposition (ppm)			
	0	50	250	1 000*
Nombre de femelle atteinte d'atrophie ovarienne	0	0	0	5
Nombre de femelles observées	10	10	10	10

$p < 0,05$

Les auteurs ont identifié une NOAEC à 250 ppm sur l'augmentation significative d'atrophie ovarienne.

Les données présentées dans le tableau ne peuvent pas être modélisées afin de déterminer une BMD (on observe un effet sur le groupe exposé à la plus forte concentration).

5.2.1.2 Ajustements

- Ajustement allométrique

D'après les recommandations de l'US EPA (1994), le 4-VCH doit être considéré comme un gaz de catégorie 3 (toxicité systémique). Ainsi, l'ajustement allométrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 3 est la suivante :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{animal}} \times (\text{Hb/g})_{\text{souris}} / (\text{Hb/g})_{\text{Homme}}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partage sang/air du 4-VCH

HED : human equivalent dose

Les coefficients de partage sang/air du 4-VCH pour l'Homme et la souris n'étant pas connus, l'US EPA propose de retenir la valeur par défaut de 1. En effet, les données de la littérature indiquent que le coefficient de partition sang/air chez l'animal est plus élevé que celui chez l'homme (US EPA, 1994).

- Ajustement temporel

Les souris ont été exposées 6 heures par jour et 5 jours par semaine. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC ADJ}} = \text{NOAEC}_{\text{HEC}} \times (6\text{h}/24\text{h}) \times (5\text{j}/7\text{j}) = 45 \text{ ppm}$$

5.2.1.3 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $\text{NOAEC}_{\text{HED ADJ}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$\text{UF}_{A\text{-TD}} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$\text{UF}_H = 10$$

- UF_S : ce facteur d'incertitude est appliqué lorsque la dose critique a été déterminée à partir d'études subchroniques et que la VTR s'applique pour des expositions chroniques

$$\text{UF}_S = 3$$

Tableau 37 : VTR chronique par voie respiratoire pour le 4-VCH

Effet critique	Concentration critique	UF	VTR
Augmentation atrophie ovarienne Bevan <i>et al.</i> (1996) : étude 13 semaines chez la souris	LOAEC = 1 000 ppm NOAEC = 250 ppm	75	VTR = 2,7 mg.m⁻³ soit 0,6 ppm
	<u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = 250 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{HEC ADJ} = 45 ppm	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance Moyen/fort

Le niveau de confiance global moyen/fort a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : fort
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait de plusieurs études sur ce composé.
- choix de l'effet critique et mode d'action : fort
Cet effet est retrouvé dans plusieurs études.
- choix de l'étude clé : fort
Il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les bonnes pratiques de laboratoire.
- choix de la dose critique : moyen
Une modélisation de la relation dose réponse n'a pas pu être réalisée, l'effet n'a été observé que sur le groupe exposé à la plus forte concentration.

5.2.2 VTR chronique pour la voie orale

5.2.2.1 Choix de l'effet critique

Les études du NTP (1996) et de Grizzle *et al.* (1994) sont les seules études disponibles pour établir une VTR chronique pour une exposition par voie orale. Les deux études rapportent une toxicité ovarienne (diminution du nombre de follicules primordiaux et/ou primaires). Cependant, dans l'étude de Grizzle *et al.*, l'examen des ovaires a été réalisé dans ces études uniquement dans le groupe témoin et dans le groupe traité à la dose supérieure.

Les auteurs ont mis en évidence un LOAEL à 1 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (NTP, 1996) et un LOAEL à 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (Grizzle *et al.*, 1994) (Tableau 38).

Tableau 38 : Diminution du nombre de follicules ovariens chez des souris CD-1 lors d'une exposition pendant 14 semaines au 4-VCH (Grizzle *et al.*, 1994)

	Doses d'exposition (en mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)	
	0	500*
Follicules primordiaux	208,9 ± 13,8	140,6 ± 15,3
Follicules en croissance	51,2 ± 3,3	23,2 ± 1,8
Follicules antraux	7,40 ± 0,74	4,95 ± 0,58

*p<0,05

Le nombre de souris observées est de 20. Les résultats représentent des moyennes de follicules par ovaire \pm l'erreur à la moyenne. Les auteurs ont trouvé une différence statistiquement significative pour chaque type de follicules à la dose de 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (p<0,05).

5.2.2.2 Ajustement allométrique

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante²⁸ :

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids homme}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des souris (femelle) pris par défaut est de 30 g. Celui utilisé pour l'Homme est de 70 kg.

Soit une dose critique LOAEL_{HED} = 72 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹

5.2.2.3 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la LOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$\text{UF}_{A-TD} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$\text{UF}_H = 10$$

- Utilisation d'un LOAEL (UF_L) : Un facteur d'incertitude UF_L de 3 a été choisi pour le choix d'un LOAEL comme dose critique (à la place d'un NOAEL ou d'une BMD)

$$\text{UF}_L = 3$$

- UF_S : ce facteur d'incertitude est appliqué lorsque la dose critique a été déterminée à partir d'études subchroniques et que la VTR s'applique pour des expositions chroniques

$$\text{UF}_S = 3$$

²⁸ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

Tableau 39 : VTR chronique par voie orale pour le 4-vinylcyclohexène

Effet critique	Concentration critique	UF	VTR
Diminution du nombre de follicules ovariens Grizzle <i>et al.</i> (1994) : étude sur le développement sur deux générations chez des souris CD-1	LOAEL = 500 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	225	VTR = 0,32 mg .kg.pc ⁻¹ .j ₁
	<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL _{HED} = 72 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	UF _L = 3 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance Moyen/fort

Le niveau de confiance global moyen a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : fort
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait plusieurs études sur ce composé.
- choix de l'effet critique et mode d'action : fort
Cet effet est retrouvé dans d'autres études, notamment par le NTP.
- choix de l'étude clé : fort
Il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les bonnes pratiques de laboratoire.
- choix de la dose critique : faible
Une modélisation de la relation dose réponse n'a pas pu être réalisée, plusieurs doses ont été testées mais l'analyse du nombre de follicules ovariens n'a été réalisé qu'à la dose supérieure.

5.3 VTR cancérogènes

La plupart des tests de génotoxicité réalisés *in vitro* et *in vivo* ne sont pas concluants. La seule étude, réalisée par le NTP, sur cellule de lymphome de souris, a été trouvée positive avec activation métabolique. Le CES a souligné que le métabolite principal (4-VCD) de ce composé était un génotoxique avéré. Le 4-VCH a finalement été considéré par le CES comme étant une substance génotoxique indirecte.

Par ailleurs, en l'absence de preuve d'un mécanisme d'action cancérogène direct, une VTR sans seuil a été construite suivant les recommandations de la méthodologie de l'Anses de détermination d'une VTR cancer (Anses, 2009).

5.3.1 VTR cancérogène pour la voie orale

5.3.1.1 Choix de la dose critique

Les données de génotoxicité ainsi que celles concernant le mécanisme d'action du 4-VCH permettent de proposer la construction d'une VTR sans seuil pour les effets cancérogènes du 4-VCH induits par voie orale.

Tableau 40 : Résumé de l'augmentation de tumeur ovarienne chez les femelles

	Doses d'exposition (mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹)		
	0	200*	400*
Nombre d'animaux traités (femelles)	49	48	47
Nombre d'animaux atteint de tumeurs de cellules de la granulosa ovarienne et/ou de carcinome ovariens	1	10	13

*p<0,05

La relation entre l'augmentation des tumeurs et la dose journalière d'exposition au 4-VCH (Tableau 40) a été modélisée avec le logiciel BMDs 2.1.1 de l'US EPA : élaboration d'une Benchmark Dose (BMD).

Le modèle log logistique a été retenu pour l'estimation de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% d'une dose correspondant à une augmentation de 10% de la réponse²⁹ par rapport au groupe non exposé (Figure 5).

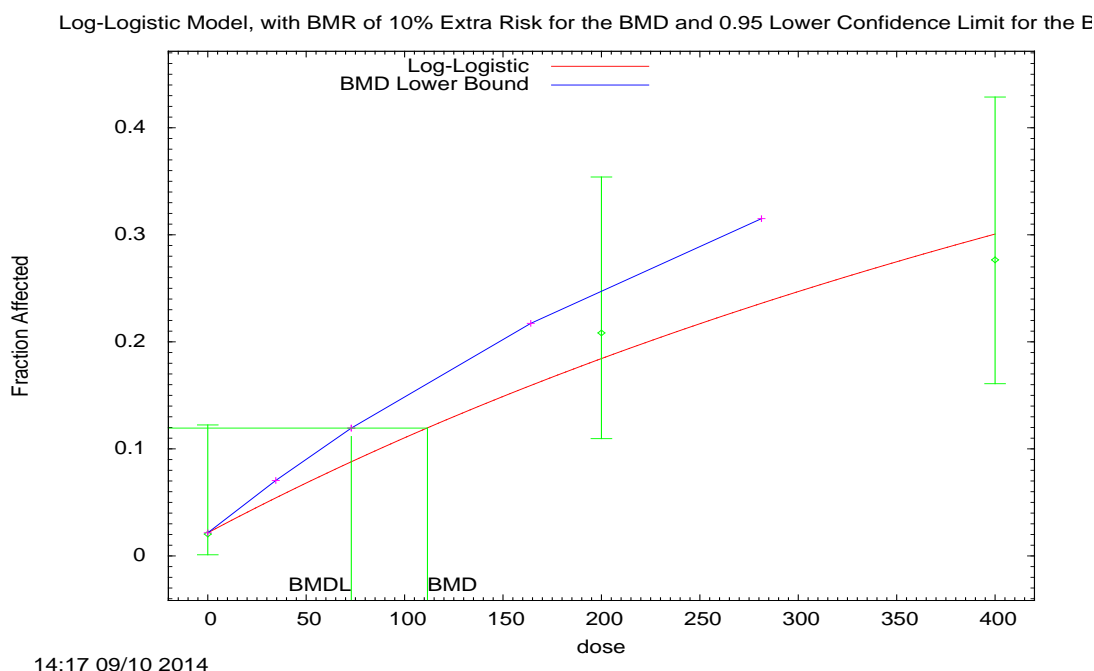


Figure 5 : Relation entre l'augmentation tumeur et la dose journalière d'exposition au 4-VCH

²⁹ Le seuil de 10% est recommandé par l'Anses pour la construction des VTR sur des effets cancérigènes.

Les doses critiques calculées sont :

$$\begin{aligned} \text{BMD}_{10\%} &= 112 \text{ mg.kg.pc}^{-1}.\text{j}^{-1} \\ \text{BMD}_{10\%} \text{ L}_{95\%} &= 73 \text{ mg.kg.pc}^{-1}.\text{j}^{-1} \end{aligned}$$

5.3.1.2 Ajustements

- Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 5 jours par semaine pendant 104 semaines. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{BMD}_{10\%} \text{ L}_{95\% \text{ ADJ}} = 73 \times (5/7) = 52 \text{ mg.kg.pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

- Ajustement allométrique

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids homme}} \right)^{1/4}$$

Le poids moyen des souris (femelle) pris par défaut est de 30 g (US EPA 1998). Celui utilisé pour l'Homme est de 70 kg.

Soit une dose critique $\text{BMD}_{10\%} \text{ L}_{95\% \text{ ADJ HED}} = 7,5 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$

5.3.1.3 Calcul de la VTR

Après ajustement dosimétrique (détermination de la dose équivalente humaine), l'extrapolation linéaire à partir d'une $\text{BMD}_{10\%} \text{ L}_{95\%}$ (Benchmark Dose) conduit à la détermination d'une pente correspondant à l'excès de risque unitaire.

Le calcul de la pente ou excès de risque unitaire se calcule suivant la formule :

$$\text{Pente} = \text{BMR/BMD}_{10\%} \text{ L}_{95\% \text{ ADJ HED}} = 1,3 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$$

Le Tableau 41 résume la détermination de la VTR sans seuil d'effet par voie orale du 4-VCH.

Tableau 41 : VTR cancérigène par voie orale pour le 4-VCH

Effet critique	Dose critique	VTR
Tumeurs de cellules de la granulosa ovarienne et/ou de carcinomes ovariens	A partir des données chez l'animal $\text{BMD}_{10\%} \text{ L}_{95\%} = 73 \text{ mg.kg p.c.}^{-1}.\text{j}^{-1}$	Après extrapolation linéaire à l'origine $\text{ERU} = 1,3 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g.kg p.c.}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$
NTP (1996) publié par Collins <i>et al.</i> , 1988 : Etude de	<u>Ajustement temporel</u>	7,5 $\mu\text{g.kg.p.c}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour un risque de 10^{-4} 0,75 $\mu\text{g.kg.p.c}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour un risque de 10^{-5}

cancérogénèse chez la souris B6C3F1	BMD _{10%} L _{95%} ADJ = 52 mg.kg.pc ⁻¹ .j ⁻¹	0,075 µg.kg.p.c ⁻¹ .j ⁻¹ pour un risque de 10 ⁻⁶
	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{10%} L _{95%} ADJ HED = 7,5 mg.kg p.c. ⁻¹ .j ⁻¹	Niveau de confiance Moyen/fort

ADJ : ajustement au temps (4 jours sur 7) ; HED : dose équivalente chez l'Homme ; ERU : excès de risque unitaire

Le niveau de confiance global moyen/fort a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : fort
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait de nombreuses études sur ce composé.
- choix de l'effet critique et mode d'action : moyen
Ce composé est classé cancérogène possible par l'IARC (2B).
- choix de l'étude clé : fort
Il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les bonnes pratiques de laboratoire.
- choix de la dose critique : moyen.
Seules deux doses ont été testées.

5.3.2 VTR cancérogène pour la voie respiratoire

En l'absence d'étude sur la voie respiratoire, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR cancérogène pour la voie respiratoire.

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$\text{BMD}_{10\%} \text{L}_{95\%} \text{ADJ HED} = 13 \text{ mg.kg p.c.}^{-1} \text{.j}^{-1} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3$$

Tableau 42 : VTR cancérogène par voie respiratoire pour le 4-VCH

Effet critique	Dose critique	VTR
Tumeurs de cellules de la granulosa ovarienne et/ou de carcinomes ovariens NTP (1996) publié par Collins <i>et al.</i> , 1988 : Étude de cancérogénèse chez la	A partir des données chez l'animal BMD _{10%} L _{95%} = 73 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement temporel</u> BMD _{10%} L _{95%} ADJ = 52 mg.kg.pc ⁻¹ .j ⁻¹	Après extrapolation linéaire à l'origine ERU = 3,8 10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹ 26 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁴ 2,6 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁵ 0,26 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁶

souris B6C3F1	<u>Ajustement allométrique</u> $BMD_{10\%L-95\% ADJ HED} = 7,5 \text{ mg.kg pc}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ <u>Extrapolation voie à voie</u> $BMC_{10\%L-95\% ADJ HED} = 26 \text{ mg.m}^{-3}$	<p style="text-align: center;">Niveau de confiance Faible</p>
---------------	---	---

Le niveau de confiance d'une VTR construite par extrapolation voie à voie basée sur l'hypothèse par défaut d'une absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal) est considéré comme faible.

5.4 Conclusion

Quatre VTR (orale et respiratoire) ont été élaborées au regard des effets observés chez l'animal :

- deux VTR (orale et respiratoire) sans seuil basées sur les effets cancérogènes (en lien avec un mécanisme d'action génotoxique supposé) ;
- deux VTR chroniques (orale et respiratoire) basées sur la toxicité ovarienne.

6 VTR du Sec-butyl Ether

Compte-tenu de l'absence de données toxicologiques chez l'animal et chez l'Homme, il n'est pas possible d'élaborer une VTR pour ce composé.

7 VTR de l'acétate d'éthyle pour la voie respiratoire

Le CES s'est également appuyé sur la fiche toxicologique de l'acétate d'éthyle élaboré par l'INRS en 2011 (fiche N°18) afin de compléter l'analyse des données bibliographiques disponibles (INRS, 2011).

7.1 Choix de l'effet critique et de l'étude clé

Selon l'INRS, il existe peu de données sur la toxicité chez l'Homme. L'acétate d'éthyle étant souvent utilisé en mélange, il est difficile de dissocier son effet de celui des autres produits chimiques. Une étude chez 24 volontaires sains exposés à 400 ppm d'acétate d'éthyle pendant 4 heures a montré que l'effet principal retrouvé était une irritation des muqueuses.

Il n'existe pas d'étude de toxicité chronique pour la voie respiratoire pour l'acétate d'éthyle.

Sur la base des études *in vivo* et *in vitro* citées par l'INRS, il apparaît que la majorité des études concernant la génotoxicité de l'acétate d'éthyle sont négatives.

7.1.1.1 Etudes subchroniques

Deux études pour des expositions subchroniques sont disponibles chez l'animal.

Chez l'animal, des rats ont été exposés pendant 94 jours à 350, 750 et 1500 ppm d'acétate d'éthyle. Seule une dégénérescence de la muqueuse olfactive aurait été rapportée (INRS, 2011).

Dans l'étude de neurotoxicité (13 semaines) de Christoph *et al.* (2003), des rats Sprague Dawley (12 à 18 rats par sexe et par concentration) ont été exposés à 0, 350, 750, 1 500 ppm pendant 6 heures par jour et 5 jours par semaine. Les auteurs ne précisent pas si leur étude suit les BPL. Cependant, l'étude est assez bien détaillée pour être utilisée pour l'élaboration d'une valeur de référence. Les auteurs ont réalisé des batteries d'essais d'observation fonctionnelle et une évaluation de l'activité motrice aux semaines 4, 8 et 13. Les auteurs ont rapporté une diminution statistiquement significative du poids chez les mâles et les femelles, à partir de 750 ppm ainsi qu'une diminution statistiquement significative de l'activité motrice chez les femelles à 1 500 ppm.

La diminution significative du poids chez les mâles et les femelles est transitoire puisque le poids est rétabli 4 semaines après la fin de l'exposition.

7.2 Choix de la dose critique

A partir de l'étude de Christoph *et al.* (2003), un NOAEC sur les effets systémiques (perte de poids transitoire) à 350 ppm a pu être déterminée par les auteurs, ainsi qu'un NOAEC à 750 ppm associée à la diminution de l'activité motrice chez les femelles.

Le CES retient le NOAEC de 750 ppm associé à un effet sur la neurotoxicité (diminution de l'activité motrice chez la femelle).

7.3 Ajustements

- Ajustement allométrique

D'après les recommandations de l'US EPA (1994), l'acétate d'éthyle doit être considéré comme un gaz de catégorie 3 (toxicité systémique). Ainsi, l'ajustement dosimétrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 3 est la suivante :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC}} = \text{NOAEC}_{\text{animal}} \times (\text{Hb/g})_{\text{rat}} / (\text{Hb/g})_{\text{Homme}}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partition sang/air du 4-VCH

HEC : human equivalent dose

Les coefficients de partition sang/air de l'acétate d'éthyle pour l'Homme et la souris n'étant pas connus, l'US EPA propose de retenir la valeur par défaut de 1. En effet, les données de la littérature indiquent que le coefficient de partition sang/air chez l'animal est plus élevé que celui chez l'Homme (US EPA, 1994).

- Ajustement temporel

Les rats ont été exposés 6 heures par jour et 5 jours par semaine. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{NOAEC}_{\text{HEC ADJ}} = \text{NOAEC}_{\text{HEC}} \times (6\text{h}/24\text{h}) \times (5\text{j}/7\text{j}) = 134 \text{ ppm}$$

7.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $\text{NOAEC}_{\text{HEC ADJ}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Afsset, 2007) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de PISSC (PISSC, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$$\text{UF}_{A\text{-TD}} = 2,5$$

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : le facteur 10 est appliqué par défaut pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce.

$$\text{UF}_H = 10$$

- UF_S : ce facteur d'incertitude est appliqué lorsque la dose critique a été déterminée à partir d'études subchroniques et que la VTR s'applique pour des expositions chroniques

$$\text{UF}_S = 3$$

Tableau 43 : VTR par voie respiratoire pour l'acétate d'éthyle

Effet critique	Concentration critique	UF	VTR
Effet sur la neurotoxicité (diminution de l'activité motrice femelle) Christoph <i>et al.</i> (2003) : étude 13 semaines chez le rat Sprague Dawley	NOAEC = 750 ppm	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UFs=3	VTR = 6,4 mg.m⁻³ soit 1,78 ppm
	<u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = 750 ppm <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{HEC ADJ} = 134 ppm		Niveau de confiance Moyen/fort

Le niveau de confiance global moyen/fort a été attribué à cette VTR reprotoxique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- nature et qualité des données : moyen
L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait qu'une étude.
- choix de l'effet critique et mode d'action : fort
L'effet est bien décrit par les auteurs.
- choix de l'étude clé : fort
Il s'agit d'une étude de neurotoxicité bien détaillée
- choix de la dose critique : moyen
En l'absence de donnée chiffrée, la modélisation de la relation dose réponse n'a pas pu être réalisée.

8 Conclusions

A la première question posée par la saisine, concernant la construction des VTR et leurs conditions d'utilisations, le CES avait considéré que la démarche suivie par le BE était cohérente avec le référentiel qu'il s'est choisi (ECETOC, 2010) tant dans la démarche générale que dans l'application de la méthode mais qu'elle conduisait à des différences méthodologiques importantes par rapport aux recommandations de l'Anses. En conséquence, les VTR proposées ne pouvaient pas être validées en l'état par l'Anses.

L'Anses a donc confié au CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (CES « Substances ») la construction de VTR pour l'ensemble des composés en s'appuyant sur les règles en vigueur à l'Anses³⁰ (tableau 44)

Pour une même substance, des VTR pour des durées d'exposition aiguë ou chronique ont été élaborées en fonction des effets mis en évidence (effet sur le développement, sur la fertilité ou un effet cancérigène), mais les conditions d'application sont différentes.

Concernant les effets sur le développement, il est généralement admis qu'une exposition unique peut suffire pour induire la survenue de l'effet si l'exposition survient lors d'une phase critique du développement embryo-fœtal. Par conséquent, la dose d'exposition est directement celle à retenir sans ajustement concernant la durée de l'exposition. Une VTR reprotoxique s'applique pour des durées d'exposition d'une journée (Afsset, 2007).

Les données disponibles pour le diisobutylène (voie respiratoire) et le diisopropyl éther (voie orale) étant limitées, les VTR construites pour ces substances sont fragiles. L'élaboration de VTR pour ces composés a été réalisée par transposition de voie à voie selon les recommandations de l'agence européenne des substances chimiques (ECHA, 2012). Il conviendra de réviser ces VTR dès que de nouvelles données pertinentes de toxicité seront disponibles.

Pour le sec-butyl éther, le CES n'a pas souhaité élaborer de VTR en l'absence de données suffisantes.

³⁰ L'Anses a publié des guides d'élaboration de VTR qui détaillent la méthode utilisée par l'Agence et recommandée pour toute construction de nouvelle valeur :

- « Valeurs toxicologiques de référence pour les substances reprotoxiques. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement » (Anses, 2007),
- « Valeurs toxicologiques de référence pour les substances cancérigènes. Méthode de construction de VTR fondées sur des effets cancérigènes » (Anses, 2010).

Tableau 44 : Tableau de synthèse des VTR élaborées

Substance (CAS)	Type de VTR	Voie d'exposition	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Tert-butanol (TBA) (CAS 75-65-0)	VTR reprotoxique (aigue)	Voie orale	Mort de rats nouveau-nés peu après leur naissance Rapport d'étude de Lyondell Chemical Compagny (2004) : étude de reprotoxicité chez des rats Sprague Dawley exposés 9 semaines	NOAEL = 400 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ LOAEL = 1 000 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ BMD _{10%} L _{90%} = 173 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{10%} L _{90%} HED = 47,6 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _B = 1	VTR = 1,9 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Moyen/Fort
	VTR chroniques	Voie orale	Toxicité rénale chez le rat femelle F344	LOAEL = 180 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> LOAEL _{HED} = 46 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _L = 3	VTR = 0,6 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Moyen/Fort
		Voie respiratoire	Rapport d'étude du NTP (1995) : étude de cancérogénicité	LOAEL = 180 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> LOAEL _{HED} = 46 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Extrapolation voie à voie</u>	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _L = 3	VTR = 2,1 mg.m⁻³ Niveau de confiance : Faible
Diisobutylène (DIBE) (CAS 25167-70-8)	VTR chroniques	Voie orale	Toxicité hépatique et rénale (augmentation du poids relatif du foie et des reins)	LOAEL = 1 000 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ NOAEL = 300 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 61 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 0,8 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Moyen/Faible
		Voie respiratoire	Huntingdon Life Science (1997a) : étude de toxicité répétée chez des rats Sprague Dawley	LOAEL = 1 000 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ NOAEL = 300 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 61 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Extrapolation voie à voie</u>	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 3 mg.m⁻³ Niveau de confiance : Faible

Diisopropyl éther (DIPE) (CAS 108-20-3)	VTR chroniques	Voie respiratoire	Toxicité hépatique Dalbey et Feuston 1996 : étude 13 semaines chez des rats Sprague Dawley	BMC _{5%} L _{95%} = 1 461 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{95%} HEC= 1 461 ppm <u>Ajustement temporel</u> BMC _{5%} L _{95%} HEC ADJ = 261 ppm	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 14,5 mg.m⁻³ Niveau de confiance : Moyen
		Voie orale		BMC _{5%} L _{95%} = 1 461 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{95%} HEC= 1 461 ppm <u>Ajustement temporel</u> BMC _{5%} L _{95%} HEC ADJ = 261 ppm <u>Extrapolation voie à voie</u>	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 4 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Faible
	VTR sur le développement (aigue)	Voie respiratoire	Augmentation du nombre de côtes rudimentaires Dalbey et Feuston 1996 : étude 13 semaines chez des rats Sprague Dawley	BMC _{5%} L _{95%} = 173 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{95%} HEC= 173 ppm <u>Ajustement temporel</u> BMC _{5%} L _{95%} HED ADJ = 43,25 ppm	25 UF _A = 2,5 UF _H = 10	VTR = 7,2 mg.m⁻³ Niveau de confiance : Moyen
		Voie orale		BMC _{5%} L _{95%} = 173 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{95%} HEC= 173 ppm <u>Ajustement temporel</u> BMC _{5%} L _{95%} HED ADJ = 42,5ppm <u>Extrapolation voie à voie</u>	25 UF _A = 2,5 UF _H = 10	VTR = 2 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ Niveau de confiance : Faible
VTR cancérogène	Voie orale	Néoplasmes du système lymphoréticulaire (femelle)	A partir des données chez l'animal BMD _{10%} L _{95%} = 114 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹		Après extrapolation linéaire à l'origine	

			Belpoggi <i>et al.</i> , 2002 : étude de cancérogénèse chez le rat Sprague Dawley	<p><u>Ajustement temporel</u> BMD_{10%}L_{95%} ADJ = 49 mg.kg.pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> BMD_{10%}L_{95%} ADJ HED = 13 mg.kg p.c.⁻¹.j⁻¹</p>		<p>ERU = 7,8 10⁻⁶ (µg.kg p.c.⁻¹.j⁻¹)⁻¹</p> <p>13 µg.kg.p.c⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴ 1,3 µg.kg.p.c⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵ 0,13 µg.kg.p.c⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶</p> <p>Niveau de confiance : Faible</p>
		Voie respiratoire		<p>A partir des données chez l'animal BMD_{10%}L_{95%} = 114 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement temporel</u> BMD_{10%}L_{95%} ADJ = 49 mg.kg.pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> BMD_{10%}L_{95%} ADJ HED = 13 mg.kg p.c.⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Extrapolation voie à voie</u> BMC_{10%}L_{95%} ADJ HED = 45 mg.m⁻³</p>		<p>Après extrapolation linéaire à l'origine</p> <p>ERU = 2,2 10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹</p> <p>45 µg.m⁻³ pour un risque de 10⁻⁴ 4,5 µg.m⁻³ pour un risque de 10⁻⁵ 0,45 µg.m⁻³ pour un risque de 10⁻⁶</p> <p>Niveau de confiance : Faible</p>
4-vinylcyclohexène (4-VCH) (CAS 100-40-3)	VTR chronique	Voie respiratoire	Augmentation atrophie ovarienne Bevan <i>et al.</i> (1996) : étude 13 semaines chez la souris	<p>LOAEC = 1 000 ppm NOAEC = 250 ppm</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> NOAEC_{HEC} = 250 ppm</p> <p><u>Ajustement temporel</u> NOAEC_{HEC ADJ} = 45 ppm</p>	<p>75</p> <p>UF_{A-TD} = 2,5 UF_H = 10 UF_S = 3</p>	<p>VTR = 2,7 mg.m⁻³</p> <p>Niveau de confiance : Moyen/fort</p>
		Voie orale	Diminution du nombre de follicules ovariens Grizzle <i>et al.</i> (1994) : étude sur le développement sur deux générations chez des souris CD-1	<p>LOAEL = 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> LOAEL_{HED} = 72 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p>	<p>225</p> <p>UF_A = 2,5 UF_H = 10 UF_L = 3 UF_S = 3</p>	<p>VTR = 0,32 mg .kg.pc⁻¹.j⁻¹</p> <p>Niveau de confiance : Moyen/fort</p>

	VTR cancérogène	Voie orale	<p>Tumeurs de cellules de la granulosa ovarienne et/ou de carcinome ovariens</p> <p>NTP (1996) publié par Collins <i>et al.</i>, 1988 : Etude de cancérogénèse chez la souris B6C3F1</p>	<p>A partir des données chez l'animal BMD_{10%}L_{95%} = 73 mg.kg p.c.⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement temporel</u> BMD_{10%} L_{95%} ADJ = 52 mg.kg.pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> BMD_{10%}L_{95%} ADJ HED = 7,5 mg.kg p.c.⁻¹.j⁻¹</p>		<p>Après extrapolation linéaire à l'origine</p> <p>ERU = 1,3 10⁻⁵ (µg.kg p.c.⁻¹.j⁻¹)⁻¹</p> <p>7,5 µg.kg.p.c.⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁴</p> <p>0,75 µg.kg.p.c.⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁵</p> <p>0,075 µg.kg.p.c.⁻¹.j⁻¹ pour un risque de 10⁻⁶</p> <p>Niveau de confiance : Moyen/Fort</p>
		Voie respiratoire		<p>A partir des données chez l'animal BMD_{10%}L_{95%} = 73 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement temporel</u> BMD_{10%} L_{95%} ADJ = 52 mg.kg.pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> BMD_{10%}L_{95%} ADJ HED = 7,5 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹</p> <p><u>Extrapolation voie à voie</u> BMC_{10%}L_{95%} ADJ HED = 26 mg.m⁻³</p>	<p>Après extrapolation linéaire à l'origine</p> <p>ERU = 3,8 10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹</p> <p>26 µg.m⁻³ pour un risque de 10⁻⁴</p> <p>2,6 µg.m⁻³ pour un risque de 10⁻⁵</p> <p>0,26 µg.m⁻³ pour un risque de 10⁻⁶</p> <p>Niveau de confiance : Faible</p>	
Sec butyl éther (CAS 6863-58-7)	Pas de VTR par manque de données					
Acétate d'éthyle (CAS 141-78-9)	VTR chronique	Voie respiratoire	<p>Effet sur la neurotoxicité (diminution de l'activité motrice femelle)</p> <p>Christoph <i>et al.</i> (2003) : étude 13 semaines chez le rat Sprague Dawley</p>	<p>NOAEC = 750 ppm</p> <p><u>Ajustement allométrique</u> NOAEC_{HEC} = 750 ppm</p> <p><u>Ajustement temporel</u> NOAEC_{HEC ADJ} = 134 ppm</p>	<p>75</p> <p>UF_{A-TD} = 2,5</p> <p>UF_H = 10</p> <p>UF_S=3</p>	<p>VTR = 6,4 mg.m⁻³</p> <p>Niveau de confiance : Moyen/fort</p>

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : 12 février 2015

Signature :

Maisons-Alfort, le ,

Au nom des experts du CES

« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence »,

M Guerbet

Le président du CES

9 Bibliographie

Afsset (2007). Méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances chimiques reprotoxiques, édition scientifique Anses.

Anses (2010). Méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances chimiques cancérigènes, édition scientifique Anses.

Belpoggi F, Soffritti M, Minardi F, Bua L, Cattin E, Maltoni C (2002). Results of long-term carcinogenicity bioassays on tert-amyl-methyl-ether (TAME) and di-isopropyl-ether (DIPE) in rats. *Ann N Y Acad Sci*.

Bevan C, Stadler JC, Elliott GS, Frame SR, Baldwin JK, Heung H-W, Moran E and Panepinto AS. (1996). Subchronic toxicity of 4-vinylcyclohexene in rats and mice by inhalation exposure. *Fundamental and Applied Toxicology* 32, 1-10.

Borghoff SJ, Prescott JS, Janszen DB, Wong BA, Everitt JI. alpha 2u-Globulin nephropathy, renal cell proliferation, and dosimetry of inhaled tert-butyl alcohol in male and female F-344 rats. *Toxicol Sci*. 2001 May;61(1):176-86.

Chem view (US EPA) : <http://java.epa.gov/chemview/>

Christoph GR, Hansen JF, Leung HW. (2003). Subchronic inhalation neurotoxicity studies of ethyl acetate in rats. *Neurotoxicology* 24(6): 861-874.

Committee for Risk Assessment (2012). Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of 4 vinylcyclohexene (VCH)

Cox GE, Bailey DE, Morgareidge K. (1975). Toxicity studies in rats with 2-butanol including growth, reproduction and teratologic observations. LaB No. 2093. Food and Drug Research Laboratories, Inc., Waverly, NY.

Dalbey W, Fueston M. (1996). Subchronic and developmental toxicity studies of vaporized diisopropyl ether in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 49:29-43.

Dill JA, Lee KM, Renne RA, Miller RA, Fuciarelli AF, Gideon KM, Chan PC, Burka LT, Roycroft JH. Alpha 2u-globulin nephropathy and carcinogenicity following exposure to decalin (decahydronaphthalene) in F344/N rats. *Toxicol Sci*. 2003 Apr;72(2):223-34

ECETOC. (2010). Guidance on Assessment Factors to Derive a DNEL. Technical Report No. 110. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC), Brussels, Belgium.

EFSA Guidance of the Scientific Committee on a request from EFSA on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. *The EFSA Journal* (2009) 1150, 1-72

European Chemicals Agency, (2012). Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.8: Characterisation of dose [concentration]-response for human health.

INRS. Fiche toxicologique N°18: Acétate d'éthyle. Edition 2011.

Gallo MA, Oser BL, Cox GE, Bailey DE. (1977). Studies on the long-term toxicity of 2-butanol. *Toxicology and Applied Pharmacology* 41: 135 (Abstract).

Grizzle TB, George JD, Fail PA, Seely JC, Heindel JJ. (1994). Reproductive effects of 4-vinylcyclohexene in Swiss mice assessed by a continuous breeding protocol. *Fundamental and Applied Toxicology* 22 (1):122-129.

Huntingdon Life Science Ltd. (1997a): 2,4,4-Trimethyl pentene: Toxicity study by oral gavage administration to CD rats for 4 weeks. No 96/SOC010/1052, 11/2/97

Huntingdon Life Sciences Ltd. (1997b): 2,4,4-Trimethyl pentene: Reproductive developmental toxicity screening test by oral gavage administration to CD rats. Unpublished report No. 96/SOC009/1097 13. April 1997

IARC (1997) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, volume 60

IARC (1999). Species Differences in Thyroid, Kidney and Urinary Bladder Carcinogenesis. CapenCC, Dybing E, Rice JM & Wilbourn JD (Eds). IARC Scientific Publications **147**, Lyon.

Kimura ET, Ebert DM, Dodge PW. (1971). Acute toxicity and limits of solvent residue for sixteen organic solvents. *Toxicology and Applied Pharmacology* 19: 699–704.

McGregor D. Tertiary-Butanol: a toxicological review. *Crit Rev Toxicol.* 2010 Sep;40(8):697-727.

Nelson, BK; Brightwell, WS; Khan, A; Burg, JR; Goad, PT. (1989). Lack of selective developmental toxicity of three butanol isomers administered by inhalation to rats. *Fundam Appl Toxicol* 12: 469-479.

Nelson, BK; Brightwell, WS; Khan, A; Shaw, PB; Krieg, EF, Jr; Massari, VJ. (1991). Behavioral teratology investigation of tertiary-butanol administered by inhalation to rats. *Pharmacopsychologia* 4: 1-7.

NTP (National Toxicology Program) (1986) Toxicology and Carcinogenesis Studies of 4-vinylcyclohexene (CAS No. 100-40-3) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies) (Technical Report Series No. 303; NIH Publ. No. 86-2559), Research Triangle Park, NC

NTP (National Toxicology Program). (1995). Toxicology and carcinogenesis studies of t-butyl alcohol (CAS no 75-65-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies) (pp. 1-305). Research Triangle Park, NC.

NTP (National Toxicology Program). (1996). Toxicology and carcinogenesis studies of 4-vinylcyclohexene (cas no. 100-40-3) in f344/n rats and b6c3ft mice (gavage studies)

NTP (National Toxicology Program). (1997). NTP technical report on toxicity studies of t-butyl alcohol (CAS no 75-65-0) administered by inhalation to F344/N rats and B6C3F1 mice. Research Triangle Park, NC.

Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). Guidance notes for analysis and evaluation of chronic toxicity and carcinogenicity studies. OECD Environment, health and safety publications. Series on testing and assessment n°35 and pesticides n°14. ENV/JM/MONO(2002)19. Septembre 2002.

Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). Essai n° 414 : Étude de la toxicité pour le développement prénatal

Risk Assessment Report (2008). Risk assessment of 2,4,4 trimethylpentene CAS No: 25167-70-8. European union. <http://echa.europa.eu/>

Risk Assessment Report (2012). Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of 4 vinylcyclohexene (VCH) European union. <http://echa.europa.eu/>

Swenberg JA, Lehman-McKeeman LD. alpha 2-Urinary globulin-associated nephropathy as a mechanism of renal tubule cell carcinogenesis in male rats. IARC Sci Publ. 1999;(147):95-118. Review.

US EPA, 1988. Recommendations for and Documentation of Biological Values for Use in Risk Assessment. EPA/600/6-87/008

ANNEXES

Annexe 2 :

Modifications apportées à l'avis révisé :

1- Diisopropyl éther (DIPE) (CAS 108-20-3)

VTR cancérogène par voie orale, $ERU=7,8 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$

VTR cancérogène par voie respiratoire, $ERU=2,2 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$

2- 4-vinylcyclohexène (4-VCH) (CAS 100-40-3)

VTR cancérogène par voie orale, $ERU=1,3 \cdot 10^{-5} (\mu\text{g.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1})^{-1}$

VTR cancérogène par voie respiratoire, $ERU=3,8 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$

Notes





Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr
www.anses.fr / [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)