

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

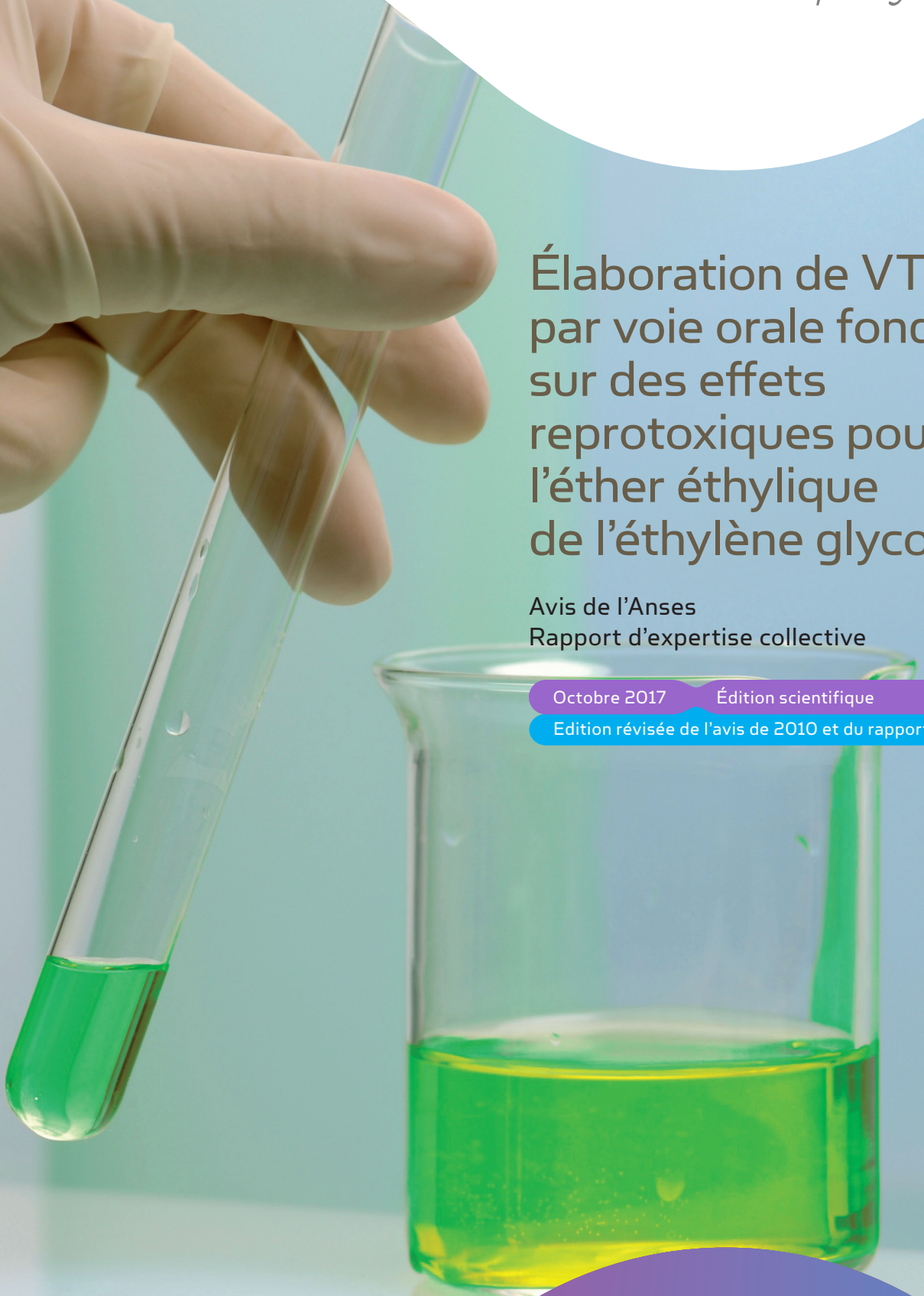
Élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Octobre 2017

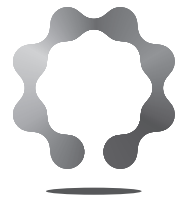
Édition scientifique

Edition révisée de l'avis de 2010 et du rapport de 2009



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2017

Édition scientifique

Édition révisée de l'avis de 2010 et du rapport de 2009

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 26 octobre 2017

AVIS du 8 avril 2010 révisé¹ **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à l'élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol (CAS 110-80-5)

L'avis du 8 avril 2010 de l'Afsset, devenue Anses en juillet 2010, portait lors de sa publication sur la recommandation de VTR pour six substances chimiques : le linuron, le di-n-butylphthalate (DnBP), le benzylbutylphthalate (BBP), le nonylphénol, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE). La VTR du toluène ayant fait l'objet d'une actualisation des travaux d'expertise en juin 2017, il était nécessaire de procéder à la révision de l'avis de 2010 susmentionné et d'individualiser l'avis pour chacune de ces substances par l'Anses. Le présent avis révisé relatif à l'éther éthylique de l'éthylène glycol reprend les conclusions et recommandations des travaux d'expertise publiés par l'Afsset en 2010 sans aucune actualisation.

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 à 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 publiés sur son site internet.

Dans le cadre du Plan national santé environnement (PNSE) 2004-2008, l'Afsset s'est auto-saisie en 2003 pour proposer une méthode de construction de valeurs toxicologiques de référence (VTR) fondées sur des effets reprotoxiques. Le 25 juillet 2007, l'Afsset s'est vu confiée la mission de construction de VTR par ses ministères de tutelles.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La caractérisation du danger d'une substance a pour objectif, lorsque les données disponibles le permettent, la construction d'une VTR, indice toxicologique permettant d'établir une relation qualitative, voire quantitative, entre une exposition à une substance chimique et un effet sanitaire chez l'homme. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable.

¹ Annule et remplace l'avis du 8 avril 2010 sans actualisation des travaux d'expertise menés en 2010 – voir annexe 1

Les VTR sont spécifiques d'un type d'effet, d'une substance, d'une durée d'exposition et d'une voie d'exposition. Leur construction diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur les mécanismes d'action toxique de la substance : on parle de VTR « à seuil de dose » pour les substances qui provoquent, au-delà d'une certaine dose, des dommages dont la gravité est proportionnelle à la dose absorbée et de VTR « sans seuil de dose », pour les substances pour lesquelles il existe une probabilité, même infime, qu'une seule molécule pénétrant dans l'organisme provoque des effets néfastes pour cet organisme.

Les VTR à seuil s'expriment comme des doses (ou concentrations) journalières admissibles et correspondent à une estimation théorique de la quantité de substance à laquelle un individu peut théoriquement être exposé sans constat d'effet sanitaire néfaste. Les VTR sans seuil s'expriment comme des excès de risque unitaire et correspondent à la probabilité théorique qu'un individu contracte une pathologie s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance.

Les VTR sont utilisées dans le cadre des évaluations des risques sanitaires. Il s'agit le plus souvent de prévenir l'apparition d'un effet dans une population exposée ou d'estimer un risque en fonction des niveaux d'exposition de la population étudiée.

En accord avec le plan d'action relatif aux éthers de glycol préparé par la Direction générale de la santé (DGS) et annoncé lors du Comité national de sécurité sanitaire du 26 février 2003, et avec l'action 21 du PNSE 2004-2008, l'Afsset s'est auto-saisie pour établir un programme national sur les VTR visant à la constitution d'une expertise française solide et partagée par les différentes instances compétentes. Conformément à la demande originelle du Conseil supérieur d'hygiène public de France (CSHPF), et compte tenu des préoccupations nationales et internationales actuelles, le domaine des substances chimiques toxiques sur la reproduction et le développement embryofœtal présentes dans différents milieux de vie a été proposé en priorité.

Le 25 juillet 2007, le Directeur général de la santé (DGS) et le Directeur général de la prévention des risques (DGPR) ont saisi l'Afsset afin de soumettre au CES concerné les VTR proposées à l'issue de la phase pilote mise en place lors de l'élaboration de la méthode de construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques, à savoir le linuron, le di-n-butylphtalate (DnBP), le benzylbutylphtalate (BBP), le nonylphénol, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE).

■ **Élaboration d'une méthode de construction de VTR fondées sur des effets toxiques pour la reproduction et le développement**

Afin de proposer une méthode de référence pour la construction de VTR pour les substances toxiques sur la reproduction et le développement et d'identifier quelles pourraient être les substances prioritaires devant faire l'objet de la construction de telles VTR, l'Afsset a mis en place en 2004 un groupe de travail inter établissements regroupant l'Ineris, l'INRS, l'Afssa, l'InVS, l'ENSP, le Cnam, l'Inserm, le CNRS, les CAP et l'UIC. Cette réflexion, qui s'inscrit dans un contexte européen, vise principalement à développer une analyse critique sur le choix et la construction de VTR pour les substances chimiques reprotoxiques les plus préoccupantes. Parallèlement, le groupe de travail s'est réuni à 12 reprises entre 2004 et 2006, et a rendu deux rapports d'expertise :

- Un rapport intitulé « Identification d'une liste de substances toxiques pour la reproduction et le développement, et proposition d'une méthode de hiérarchisation pour l'analyse des valeurs toxicologiques de référence ». Ce rapport a été présenté au Comité d'experts spécialisés (CES) « évaluation des risques liés aux substances chimiques » le 28 janvier 2005 ;

- Un rapport intitulé « Document de référence pour la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets reprotoxiques », présenté au CES évaluation des risques liés aux substances chimiques le 29 septembre 2006 ;

Ces 2 rapports ont fait l'objet d'un avis de l'Agence daté du 16 avril 2007 ; l'ensemble de ces documents sont publiés sur le site internet de l'Afsset.

■ **Élaboration de VTR de substances reprotoxiques dans le cadre d'une phase pilote**

Dans le cadre du développement de la méthode de construction de VTR reprotoxiques, une phase pilote a été réalisée pour « tester » la méthodologie proposée par le groupe de travail sur quelques substances modèles. À cette fin, l'Agence a fait appel à différents organismes d'expertise prestataires pour construire, selon le document de référence du groupe de travail, les VTR reprotoxiques des substances suivantes :

- Toluène (INERIS)
- Ether éthylique de l'éthylène glycol ou EGEE (INERIS)
- Linuron (Vincent Nedellec Consultant)
- Benzyl butyl phtalate ou BBP (Vincent Nedellec Consultant)
- Nonylphenol (ESMISAB/UBO, Technopôle Brest-Iroise)
- Di-n-butyl-phtalate ou DnBP (ESMISAB/UBO, Technopôle Brest-Iroise)

La construction et les propositions de VTR pour les six substances étudiées lors de la phase pilote font l'objet des annexes 2 et 3 du « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques. Afsset. Décembre 2006 » disponible en ligne sur le site de l'Agence. L'élaboration de ces VTR avait pour objet de valider la méthode proposée et les valeurs obtenues n'avaient donc pas fait l'objet d'un avis du CES.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Le 25 juillet 2007, le Directeur général de la santé (DGS) et le Directeur général de la prévention des risques (DGPR) ont demandé à l'Afsset par courrier de faire valider ces VTR proposées à l'issue de la phase pilote. L'Afsset a subséquemment confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » l'instruction de cette saisine lors de sa séance du 20 septembre 2007. Le CES a mandaté un expert rapporteur pour chaque substance, nommés par décision du Directeur général de l'Afsset, avec pour mission de :

- faire une relecture attentive et une analyse critique du rapport du prestataire ;
- réaliser une analyse critique des choix effectués aux différentes étapes de la construction de VTR au regard des éléments disponibles dans la méthode de construction des VTR pour les effets sur la reproduction et le développement ;
- faire une analyse critique des données bibliographiques publiées depuis la parution de ce rapport ;
- participer à la rédaction du rapport d'expertise collective.

Les travaux des experts rapporteurs ont été soumis et discutés par le CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

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) » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

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

Le présent avis se fonde, pour ce qui concerne les aspects scientifiques, sur les rapports des organismes experts prestataires regroupés dans le document de référence de l'Afsset, décembre 2006, annexe 2 cité ci-dessus, sur les rapports d'expertise qui ont été adoptés par le CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » entre le 16 juin 2008 et le 17 septembre 2009 et sur la note de synthèse du CES pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol : Validation de VTR fondées sur des effets reprotoxiques : l'éther éthylique de l'éthylène glycol (CAS 110-80-5). Version finale. Septembre 2009 ; Note de synthèse adoptée le 17 septembre 2009.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

- L'Ether éthylique de l'éthylène glycol (EGEE) est un éther de glycol, appelé également 2-éthoxyéthanol. Il fait partie de la famille des éthers de glycol de la série E (éthylénique). La population générale est exposée principalement par inhalation et par absorption cutanée lors d'utilisation de produits de consommation courante. Des VTR ont ainsi été construites pour la voie inhalée.
- L'EGEE entraîne chez l'animal comme chez l'homme des effets sur les organes reproducteurs mâles (diminution du poids des testicules et de l'épididyme, dégénérescence des tubes séminifères, diminution du taux de spermatozoïdes et de leur motilité, augmentation des spermatozoïdes anormaux et azoospermie) ainsi que des effets sur le développement (augmentation des pertes préimplantatoires, résorptions fœtales et de la mortalité des embryons, diminution du poids du fœtus et du nombre de fœtus vivants par portée et augmentation de l'incidence des malformations des viscères et du squelette).
- Depuis 1993, l'EGEE est classé par l'UE comme substance reprotoxique de catégorie 2 pour le développement et pour la fertilité chez l'homme en application de la Directive 67/548/CE.

L'Afsset propose ainsi la construction de deux VTR inhalation, pour les effets sur la fertilité et pour les effets sur le développement.

- **VTR fertilité**

L'Afsset propose une VTR par inhalation spécifique aux effets sur la fertilité applicable pour une exposition chronique. Par manque de données chez la femme, cette VTR s'applique par défaut aux deux sexes.

Effet critique	Dose critique*	UF	VTR
Diminution du poids des testicules et de l'épididyme	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ LOAEL = 1480 mg.m ⁻³	1000	VTR = 0,07 mg.m⁻³
Étude de toxicité subchronique par inhalation chez des lapins mâles New Zealand White	Pas de construction de BMDL	UF _A 10 UF _H 10 UF _S 10	
Barbee <i>et al.</i> , 1984	<u>Ajustement temporel</u> NOAEL_{ADJ} = 68 mg.m⁻³		

LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL = No Observed Adverse Effect Level; BMD = Benchmark Dose; UF = *uncertainty factors* (facteurs d'incertitude). UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_S : transposition d'une exposition subchronique à chronique

* Coefficients allométriques : NEANT. Facteur de conversion temporelle : par précaution et en l'absence de lignes directrices précises sur ce thème, le NOAEL de 380 mg.m^{-3} a été transformé pour tenir compte d'une exposition continue (24 heures sur 24), selon la loi de Haber, car les lapins n'étaient exposés que 6 heures sur 24 et 5 jours sur 7.

- **VTR développement**

Des effets sur le développement ont été mis en évidence chez l'animal. Cependant, en l'absence de données de qualité suffisante, l'Afsset n'a pas pu construire de VTR pour les effets sur le développement induits par l'EGEE.

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 qui portent sur l'élaboration d'une VTR reprotoxique par voie orale pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol.

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

Éther éthylique de l'éthylène glycol, reprotoxicité, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence, dose critique, facteurs d'incertitude, effets santé, population générale

ANNEXE 1 : SUIVI DES ACTUALISATIONS DU RAPPORT

Date	Version	Description de la modification
Novembre 2009	01	Rapport relatif à l'élaboration de VTR reprotoxiques pour le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, les nonylphénols, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol
Juin 2017	02	Séparation du précédent rapport pour avoir un rapport par substance Pas d'actualisation de l'expertise

Valeurs toxicologiques de référence

Elaboration d'une VTR reprotoxique par voie orale pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol (n°CAS 110-80-5)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »
Saisine n°2017-SA-0210
Saisine liée 2003/AS03-1

RAPPORT **d'expertise collective de novembre 2009 révisé** **en juin 2017¹**

Comité d'experts spécialisé « Evaluation des risques liés aux substances chimiques »

Novembre 2009

¹ Annule et remplace le rapport de novembre 2009 – voir annexe 2

Mots clés

Ether éthylique de l'éthylène glycol, reprotoxicité, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence, dose critique, facteurs d'incertitude, effets santé, population générale.

Key words

2-ethoxyethanol, reprotoxicity, development, fertility, TRV, Toxicological reference value, critical dose, uncertainty factor, health effects, general population

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts 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.

GRUPE DE TRAVAIL « VALEURS TOXICOLOGIQUES DE RÉFÉRENCE »

Président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, évaluation des risques liés à la femme enceinte en entreprise, Institut National de Recherche et de Sécurité

Membres

Mme Magali BOIZE – EDF- Service des études médicales

M. Radhouane CHAKROUN – Institut de Santé et de Sécurité au travail, Tunisie

M. Dany CHEVALIER – Université de Lille

M. Frédéric DOR – Institut de veille sanitaire

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Centre International de Recherche sur le Cancer

M. Michel FALCY – Institut National de Recherche et de Sécurité

M. Sébastien GIRAULT – Cephalon France

Mme Cécile KAIRO - Institut de veille sanitaire

Mme Bénédicte LA ROCCA – Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

M. Rémi MAXIMILIEN – Commissariat à l'Énergie Atomique

Mme Bette MEEK - Université d'Ottawa, Canada

M. Jean-Ulrich MULLOT – Service de santé des Armées

M. Mostafa OULD-ELKHIM – Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

M. Alain-Claude ROUDOT – Université de Brest

Mme Sylvie TISSOT - Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

Mme Laurence VIAN – Université de Montpellier

RAPPORTEURS

M. Frédéric DOR – Institut de veille sanitaire. Membre du Groupe de Travail « Valeurs toxicologiques de référence ».

M. Radhouane CHAKROUN – Institut de Santé et de Sécurité au travail, Tunisie. Membre du Groupe de Travail « Valeurs toxicologiques de référence ».

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- Evaluation des risques liés aux substances chimiques – 25 juin 2009 et 17 septembre 2009

Président

M. Michel GUERBET – Professeur des Universités en toxicologie

Membres

M. Pierre-Marie BADOT – Professeur des Universités en biologie environnementale

Mme Claire BEAUSOLEIL – Pharmacien toxicologue responsable des évaluations européennes des substances chimiques. Démission le 28 septembre 2009.

M. Luc BELZUNCES – Directeur de recherche, responsable du laboratoire de toxicologie environnementale à l'INRA

Mme Christine CEZARD – Pharmacien toxicologue en centre anti-poison

M. Michel DESLAURIERS – Médecin toxicologue, pôle de toxicologie industrielle

M. Pascal EMPEREUR-BISSONNET – Evalueur de risque en santé environnement

Mme Brigitte ENRIQUEZ – Pharmaco-toxicologue

M. Olivier FARDEL – Professeur des Universités en toxicologie

Mme Hélène FENET – Pharmacien, Maître de conférence en sciences de l'environnement et santé publique

M. Luc FERRARI – Pharmacien toxicologue

M. Luc FONTANA – Maître de Conférences des Universités – Praticien hospitalier, Médecine, Santé au travail

Mme Nathalie FOUILHE SAM-LAI – Pharmacien toxicologue en centre anti-poison

Mme Barbara GOUGET – Chercheur en toxicologie des contaminants physico-chimiques. Démission le 1er juillet 2009.

Mme Dominique GUENOT – Chercheur en cancérologie et neurosciences

M. Cong Khanh HUYNH – Dr ès Science, ingénieur chimiste spécialisé en santé au travail

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, évaluation des risques liés à la femme enceinte en entreprise

Mme Béatrice LALERE – Docteur en chimie analytique et en environnement

Mme Annie LAUDET-HESBERT – Pharmacien toxicologue, retraitée de l'INRS

M. Jean-Pierre LEPOITTEVIN – Professeur des universités en dermatochimie

Mme Anne-Christine MACHEREY – Docteur en toxicologie, spécialisée dans la prévention du risque chimique

Mme Florence MENETRIER – Pharmacien, chef de projet dans le domaine de la toxicologie nucléaire, CEA

Mme Annie PFOHL-LESZKOWICZ – Professeur d'Université en toxicologie et sécurité alimentaire, Pharmacien-Toxicologue

M. Daniel PICART – Retraité de l'enseignement et de la recherche en chimie structurale

M. Alain-Claude ROUDOT – Enseignant chercheur en statistique et analyse de risque

Mme Béatrice SECRETAN – Docteur en toxicologie spécialisée dans l'évaluation de la cancérogénicité des substances

Mme Anne STEENHOUT – Chimiste, spécialiste en évaluation intégrée des risques sanitaires

M. Robert TADRIF – Chimiste et toxicologue, spécialisé en santé environnement et santé au travail

M. Eric THYBAUD – Ecotoxicologue.

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

Mme Nathalie BONVALLOT – Chef de projet scientifique – toxicologue – Afsset

Mme Aurélie MATHIEU – Chargée de projet scientifique – pharmacien – Afsset

M. Christophe ROUSSELLE – Chef d'unité - toxicologue – Afsset

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX – Afsset

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU COLLECTIF

« Construction d'une VTR reprotoxique selon le document de référence de l'Afsset – Ether éthylique de l'éthylène glycol (EGEE). 06 novembre 2006 » Mme Blandine DOORNAERT, INERIS

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions	8
Sigles et abréviations	18
Liste des tableaux.....	19
Liste des figures	19
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	20
1.1 Contexte.....	20
1.2 Objet de la saisine.....	21
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	21
2 Recueil des données toxicologiques.....	22
2.1 Généralités.....	22
2.2 Toxicocinétique.....	22
2.3 Effets sanitaires	23
2.3.1 Toxicité aiguë.....	23
2.3.2 Toxicité chronique.....	24
2.3.3 Cancérogénicité et génotoxicité.....	24
2.3.4 Effets reprotoxiques	24
2.3.4.1 Effets sur la reproduction	24
2.3.4.2 Effets sur le développement.....	25
2.4 Mécanisme d'action	26
3 Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR	28
3.1 VTR existantes pour les effets reprotoxiques.....	28
3.2 VTR pour les effets sur la fertilité	28
3.2.1 Choix de l'effet critique.....	28
3.2.2 Choix de l'étude	29
3.2.3 Choix de la dose critique.....	29
3.2.4 Facteur d'ajustement	29
3.2.5 Choix des facteurs d'incertitude.....	30
3.2.6 Synthèse	31
3.3 VTR pour les effets sur le développement	31
3.3.1 Choix de l'effet critique.....	31
3.3.2 Choix de l'étude	31
4 Conclusion	33
5 Récapitulatif des VTR.....	34
6 Bibliographie.....	35

ANNEXES	38
Annexe 1 : Lettre de saisine.....	39
Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport.....	41
Annexe 3 : Analyse de l'étude de Barbee <i>et al.</i> (1984)	42
Annexe 4 : Analyse de l'étude de Doe (1984).....	44

Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions

)) afsset.))

EXPERTISE COLLECTIVE : SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Relative la construction d'une VTR par inhalation fondée sur les effets reprotoxiques de l'éther éthylique de l'éthylène glycol (N°CAS 110-80-5)

Saisine Afsset n° « 2003/AS03 »

Ce document synthétise les travaux du prestataire, du groupe de travail « Valeurs Toxicologiques de Référence » et présente les compléments du Comité d'Experts Spécialisés.

Présentation de la question posée

Dans le cadre du programme de travail de l'Afsset sur les VTR reprotoxiques, une phase pilote a été organisée afin de s'assurer de la mise en pratique de la méthode de construction proposée. Des VTR reprotoxiques ont été construites dans le cadre de prestations pour le linuron, le di-n-butylphtalate (DnBP), le benzylbutylphtalate (BBP), le nonylphénol, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE).

L'Afsset a été saisie le 25 juillet 2007 par la DGS afin que ces VTR soient validées dans le cadre de l'expertise collective de l'Agence. La VTR de l'EGEE fait l'objet de cette note d'expertise.

Organisation de l'expertise

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » la validation de ces VTR. Ce dernier a mandaté le groupe de travail « Valeurs toxicologiques de référence » pour l'expertise du rapport du prestataire et la construction de la VTR reprotoxique de l'EGEE. Deux rapporteurs du groupe de travail ont été nommés. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux d'expertise sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. Ils ont été réalisés dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

Description de la méthode

Sur la base du document « Construction d'une VTR reprotoxique pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol » réalisé par l'INERIS¹, les rapporteurs du groupe de travail VTR ont évalué la conformité de la méthode employée par rapport aux préconisations du groupe de travail sur les points suivants : i) recherche d'informations et ii) profil toxicologique en vue de sélectionner l'effet critique et l'étude source à exploiter. Ils ont ensuite donné leur avis sur les choix effectués au regard des données disponibles.

La construction des VTR diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur le mode d'action toxique de la substance. En l'état actuel des connaissances et des

¹ Annexe 2 du document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques

² NOAEL : « no observed adverse effect level » ; LOAEL : « lowest observed adverse effect level » ; BMDL : « benchmark dose lower confidence level » (limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose)

• Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
253 av. du Général Leclerc 94701 Maisons-Alfort Cedex
Tél. 01.56.29.19.30 Fax 01.43.96.37.67 Mèl afsset@afsset.fr
www.afsset.fr

conventions, on considère généralement que pour les effets reprotoxiques, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (à l'exception des effets mutagènes sur cellules germinales). Ce postulat peut néanmoins être remis en cause si les données disponibles le justifient.

La construction d'une VTR est donc définie de la manière suivante :

$$VTR = \frac{\text{Dose critique}}{UF} \quad \text{avec} \quad \begin{array}{l} \text{Dose critique} = \text{NOAEL, LOAEL ou BMDL}^2 \\ UF = \text{facteur d'incertitude global appliqué} \end{array}$$

En pratique, la construction de la VTR implique les considérants suivants :

- choix de l'effet critique ;
- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant d'établir une relation dose – réponse (ou dose – effet) ;
- choix ou construction d'une dose critique à partir des données obtenues chez l'animal et/ou chez l'homme ;
- application de facteurs pour tenir compte de la variabilité et des incertitudes.

La méthode est détaillée dans le document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques (Afsset, Décembre 2006) et la construction de la VTR de l'Ether éthylique de l'éthylène glycol s'appuie sur cette méthode.

Une discussion au sein du CES a permis de se prononcer sur le choix de la dose critique et des facteurs d'incertitude. Le CES a insisté sur la nécessité de restituer les études complémentaires qui, si elles ne sont pas directement exploitées pour l'identification de la dose critique, sont utiles au choix des facteurs d'incertitudes (études de toxicocinétique, disponibilité d'autres NOAEL ou LOAEL, etc.).

Résultat de l'expertise collective

Recueil des données toxicologiques

Cette partie est fondée sur le résumé des travaux réalisés en 2006 par le prestataire dans le cadre de la phase pilote. Pour plus d'information, le lecteur pourra se reporter au « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques, annexe 2 ». Le rapport est basé sur les monographies rédigées au préalable par des instances nationales et sur la littérature parue postérieurement à ces monographies.

L'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE), appelé également 2-éthoxyéthanol, appartient à la famille des éthers de glycol et plus particulièrement à la série E (Éthylénique) (N° CAS 110-80-5).

L'EGEE est classé depuis 1993 (19^{ème} ATP) par l'Union Européenne (UE) comme substance reprotoxique chez l'Homme de catégorie 2 pour le développement et pour la reproduction (R60 : peut altérer la fertilité, R61 : risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant). Ce composé est également classé comme substance nocive (R22 : nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion)².

² Règlement « Classification, Labelling and Packaging » : Toxicité pour la reproduction catégorie 1B ; Mentions de danger : H226 - Liquide et vapeurs inflammables, H360FD - Peut nuire à la fertilité et au fœtus, H332 - Nocif par inhalation, H312 - Nocif par contact cutané, H302 - Nocif en cas d'ingestion

L'EGEE intervient dans de nombreuses préparations à usage industriel³. Cependant son utilisation a fortement diminué depuis sa classification par l'UE comme R2 en 1993. Ainsi, sur 13 000 préparations enregistrées dans la base SEPIA de l'INRS entre 2000 et 2006, 24 préparations contenaient de l'EGEE (solvant, peintures, vernis, encres d'imprimerie, produits d'entretien ménagers et industriels) [Afsset, 2008]. Les expositions sont ainsi peu fréquentes. La population générale peut être exposée principalement par inhalation et absorption cutanée lors de l'utilisation de produits de consommation courante. L'exposition par voie orale est minime. Ainsi, une VTR sera construite pour la voie inhalée.

Toxicocinétique

Chez l'Homme, comme chez l'animal, l'EGEE est rapidement absorbé par les voies respiratoire, cutanée et digestive, et se distribue rapidement dans tout l'organisme. La voie métabolique majeure est la formation de l'acide 2-éthoxyacétique (2-EAA) (23-35 % chez l'homme, 20-40 % chez le rat) résultant de l'action de l'alcool puis de l'aldéhyde déshydrogénase sur l'EGEE. Le 2-EAA est le principal métabolite responsable des effets toxiques de l'EGEE. Le 2-EAA est éliminé principalement dans les urines (chez l'homme : pic urinaire = 4-12h, temps de demi-vie > 40h, chez le rat : temps de demi-vie 10-12h). D'autres voies métaboliques existent et entraînent la formation d'éthylène glycol, d'acide glycolique, etc. qui sont éliminés dans les urines. Enfin, dans une moindre mesure, l'EGEE peut être éliminé dans l'air expiré sous forme inchangée et sous forme de monoxyde de carbone.

Bien que l'on possède peu d'informations sur les différences entre les espèces, il semblerait que le 2-EAA puisse être présent en plus fortes concentrations et pendant plus longtemps dans le sang humain que dans le sang de rat (plus grande absorption de l'EGEE et métabolisation plus intense en 2-EAA chez l'Homme que chez le rat, clairance rénale du 2-EAA plus lente chez l'Homme).

Effets sanitaires

- Toxicité aiguë

Chez l'animal, l'EGEE et ses métabolites entraînent, quelle que soit la voie d'exposition, une dépression du système nerveux central, une réduction des fonctions respiratoires et des lésions pulmonaires (œdèmes), gastro-intestinales (hémorragies) et rénales. Chez l'Homme, l'EGEE entraîne principalement des effets sur la reproduction et le développement et des altérations hématologiques (légère anémie, granulocytopenie minime) [ECETOC, 2005 ; INRS, 1999].

- Toxicité chronique

Les études disponibles en exposition subaiguë et subchronique, par ingestion, inhalation ou contact cutané, ont montré principalement des effets sur les organes reproducteurs mâles et des effets hématologiques (anémies, leucopénies) [Environnement Canada, 2003].

- Cancérogénicité et génotoxicité

Par voie orale, l'EGEE n'induit pas d'effet cancérogène chez les rongeurs à des doses allant de 0,5 à 2 g.kg⁻¹.j⁻¹ [INSERM 1999].

L'EGEE présente des résultats négatifs dans les tests de mutagenèse *in vitro* sur bactéries (test d'Ames) ou cellules de mammifères en culture (cellules de lymphomes de souris, cellules CHO de hamster chinois). Quelques tests *in vitro* ont mis en évidence une activité clastogène à des doses élevées (supérieures à 9,5 µg.ml⁻¹) : augmentation du taux d'aberrations

³ L'EGEE est soumis à une restriction d'usage interdisant la mise sur le marché et l'importation à destination du grand public de produits de consommation contenant de l'EGEE, ainsi que des préparations en contenant 0,5 % ou plus [Arrêté du 7 août 1997, modifié par l'arrêté du 19 avril 2001]. Depuis l'entrée en vigueur du règlement CLP (Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures), la limite de concentration doit être supérieure ou égale à 0,3 % pour déterminer la classification du mélange comme reprotoxique de catégorie 1B (anciennement catégorie 2 de la Directive 67/548/CE abrogée).

chromosomiques (positif sur cellules CHO de hamster chinois sans activation métabolique mais négatif sur lymphocytes humains et négatif sur cellules V79 de hamster syrien), échanges de chromatides sœurs (positif sur cellules CHO de hamster chinois et lymphocytes humains), effets d'aneuploidie (faiblement positif sur cellules V79) et un test du micronoyau faiblement positif sur cellules V79. Cependant, dans la plupart des cas, la réponse était éliminée après activation métabolique [ECETOC, 2005 ; INSERM, 1999]. Les tests *in vivo* réalisés (aberrations chromosomiques et micronoyau dans la moelle osseuse de souris, létalité récessive liée au sexe chez la drosophile) sont négatifs [ECETOC, 2005].

- Effets sur la reproduction

Chez l'homme

Par voie orale, aucune donnée concernant les effets sur la fertilité n'est disponible. Par inhalation, deux études sont publiées [Ratcliffe *et al.*, 1989 ; Welch *et al.*, 1988] et montrent que les principaux effets sur la fertilité observés en milieu professionnel relèvent d'une toxicité testiculaire : diminution du volume du liquide séminal et de la concentration en spermatozoïdes, augmentation du pH du liquide séminal, augmentation des oligospermies et des spermatozoïdes anormaux. Ces résultats sont toutefois à prendre avec précaution car les travailleurs ont été exposés à d'autres substances pouvant induire des effets reprotoxiques. Ainsi, aucun NOAEL, ni LOAEL n'ont pu être mis en évidence à partir de ces deux études.

Aucun effet sur la fertilité féminine n'a été observé.

Chez l'animal

Les effets sur la reproduction de l'EGEE, et plus particulièrement une diminution de la fertilité, ont été décrits chez le rat ou la souris exposés par voie orale ou par inhalation.

Chez les femelles, très peu d'études ont été réalisées. Elles ont montré des effets sur le cycle œstral et une atrophie de l'utérus après exposition par voie orale [Environnement Canada, 2003].

Des effets sur les organes reproducteurs mâles ont été mis en évidence tels qu'une diminution du poids des testicules et de l'épididyme, une dégénérescence des tubes séminifères, une diminution du taux de spermatozoïdes allant jusqu'à une azoospermie, une diminution la motilité des spermatozoïdes et une augmentation des spermatozoïdes anormaux. En effet, l'EGEE induit une atrophie testiculaire avec une atteinte préférentielle des spermatocytes pachytènes conduisant, à terme, à une altération de la qualité du sperme et à une diminution de la fertilité chez le mâle [INSERM, 1999].

La littérature ne rapporte pas d'élément sur la réversibilité des effets testiculaires induits par l'EGEE. Cependant, l'EGME (éthylène glycol méthyl éther) entraîne les mêmes effets sur les organes reproducteurs mâles et selon le même mécanisme d'action que l'EGEE (cf. partie mécanisme d'action). Les effets testiculaires induits par l'EGME sont réversibles au bout de 8 semaines après l'arrêt de l'exposition, mais sont rémanents après exposition aux concentrations les plus élevées [INSERM 1999]. Une analogie entre l'EGEE et l'EGME ne peut pas être envisagée car le seuil de toxicité testiculaire de l'EGEE est supérieur à celui de l'EGME (5 fois supérieur chez le rat) [INSERM, 1999].

Une revue récente de la littérature a permis d'identifier plusieurs études de reprotoxicité par voie orale. En revanche, seule une étude par inhalation a été trouvée, Barbee *et al.* (1984), dans laquelle dix lapins New Zealand White et 15 rats Sprague-Dawley CD par sexe et par groupe de dose ont été exposés par inhalation 6 heures par jour et 5 jours par semaine, pendant 13 semaines, à 0, 92,5, 380 et 1480 mg.m⁻³ d'EGEE sous forme de vapeurs. Le lapin apparaît l'espèce la plus sensible, pour laquelle une diminution significative du poids corporel chez les 2 sexes a été mise en évidence à 92,5 et 1480 mg.m⁻³ (pas à 380 mg.m⁻³). A 1480 mg.m⁻³, une diminution significative du poids des testicules et de l'épididyme a été mise en évidence (augmentation également observée aux 2 plus faibles doses mais non significative), ainsi qu'une dégénérescence focalisée légère de l'épithélium des tubes séminifères

(3 lapins/10) sans altération de la spermatogenèse. A 1480 mg.m⁻³, une anémie périphérique sans altération centrale (absence d'atteinte de l'érythropoïèse) a été observée. Chez le rat, les effets observés sont non significatifs à toutes les concentrations d'exposition. Les auteurs proposent un NOAEL de 380 mg.m⁻³ chez le lapin et de 1480 mg.m⁻³ chez le rat.

- Effets sur le développement

Chez l'homme

Aucune donnée humaine sur les effets sur le développement de l'EGEE n'est disponible quelle que soit la voie d'exposition.

Chez l'animal

Les effets sur le développement ont été décrits pour toutes les voies d'exposition. Divers effets toxiques ont été mis en évidence chez les rongeurs tels qu'une diminution du taux d'implantation, une augmentation de la résorption fœtale et de la mortalité des embryons, une diminution du poids des fœtus et du nombre de fœtus vivants par portée et une augmentation de l'incidence des malformations viscérales et squelettiques. Par voie inhalée, des modifications du comportement et une augmentation des concentrations de certains neurotransmetteurs (acétylcholine, dopamine, sérotonine, norépinéphrine) dans le cerveau ont été aussi observées chez les rats nouveau-nés.

A partir de la revue de la littérature, deux études chez l'animal ont été retenues pour la voie inhalée.

Andrew et Hardin, 1984 ont réalisé une étude chez des rates Wistar exposées avant l'accouplement pendant 3 semaines à des doses de 585 et 2173 mg.m⁻³ puis après l'accouplement du 1^{er} ou 19^{ème} jour de gestation à 754 et 2830 mg.m⁻³, et des lapines *New Zealand White* exposées du 1^{er} au 18^{ème} jour de gestation à 590 et 2277 mg.m⁻³. Chez les rates, un retard de croissance intra-utérine et une augmentation des anomalies squelettiques ont été mis en évidence à 754 mg.m⁻³. A 2830 mg.m⁻³, une forte mortalité embryonnaire a été observée en présence d'une toxicité maternelle (diminution du gain de poids). Aucun LOAEL, ni NOAEL n'a pu être déterminé car les rates ont été exposées à des concentrations différentes avant et après l'accouplement. Chez les lapines, une augmentation du nombre de résorptions par portée et de l'incidence de malformations ont été mises en évidence à toutes les doses en présence d'une toxicité maternelle (diminution de la prise de nourriture et du gain de poids, augmentation du poids du foie et des reins, modifications histopathologiques au niveau des ovaires et de l'utérus). Ainsi, en tenant compte de tous ces effets, un LOAEL de 590 mg.m⁻³ peut être proposé. Aucun NOAEL n'a été identifié.

Dans la deuxième étude, 24 lapines Dutch et 24 rates Alpk/AP par groupe de dose ont été exposées par inhalation, 6h par jour, du 6^{ème} au 15^{ème} jour de la gestation pour les rates et jusqu'au 19^{ème} jour pour les lapines, à 0, 36,8, 184 et 920 mg.m⁻³ (rates) et 0, 36,8, 184 et 646 mg.m⁻³ (lapines) de vapeurs d'EGEE [Doe, 1984]. Les résultats ont montré une toxicité maternelle chez les rates à 920 mg.m⁻³ (diminution du taux d'hémoglobine, de l'hématocrite et du volume de globules rouges) ainsi qu'une augmentation significative des pertes préimplantatoires et une diminution significative du nombre de fœtus vivants dans les portées à 36,8 et 184 mg.m⁻³ (non significatif 920 mg.m⁻³). A 920 mg.m⁻³, une augmentation significative du taux de morts intra-utérines tardives a été mise en évidence ainsi que des effets fœtotoxiques tels que des retards de croissance fœtale, une diminution significative du poids fœtal moyen (lié au retard de croissance), une réduction de l'ossification et une augmentation significative d'anomalies mineures externes, viscérales et du squelette. Chez le rat, un LOAEL de 36,8 mg.m⁻³ peut être proposé pour l'augmentation des pertes préimplantatoires et la diminution du nombre de fœtus par portée (significatif pour toutes les doses sauf la plus forte). Chez le lapin, des anomalies cardiovasculaires (non significatif), de la paroi abdominale (non significatif), des anomalies squelettiques mineures, des côtes rudimentaires surnuméraires sont observés chez la progéniture à 646 mg.m⁻³ (absence de toxicité maternelle). Un LOAEL de 646 mg.m⁻³ et un NOAEL de 184 mg.m⁻³ peuvent être proposés chez le lapin.

Mécanisme d'action

Les études mécanistiques chez l'homme indiquent que la toxicité sur la fertilité (toxicité testiculaire) est due à l'acide 2-éthoxyacétique (2-EAA), principal métabolite de l'EGEE. Chez l'animal, les mécanismes d'action ne sont pas bien connus. Cependant, les effets testiculaires seraient induits par un blocage de la spermatogénèse à un stade précoce (spermatocytes I). Les études *in vivo* et *in vitro* suggèrent que la toxicité de l'EGEE chez l'animal est aussi due à ses métabolites dont le principal est l'2-EAA. Il affecte les cellules cibles en agissant comme un inhibiteur compétitif des acides tricarboxyliques du cycle de Krebs et en interférant avec la biodisponibilité des petites unités carbonées nécessaires à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques.

Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR**VTR pour les effets sur la fertilité**

- *Choix de l'effet critique*

Les différentes études analysées montrent que l'EGEE est capable d'induire des effets sur la fertilité, et plus particulièrement sur la fertilité masculine. Ces effets ont été observés chez l'animal mais également bien identifiés et décrits chez l'homme avec une diminution du poids des testicules et de l'épididyme, une dégénérescence des tubes séminifères, une diminution du taux de spermatozoïdes et de leur motilité, une augmentation des spermatozoïdes anormaux et une azoospermie.

Aucun effet sur la fertilité féminine n'a été mis en évidence.

Le CES retient donc les effets sur les organes reproducteurs mâles et plus particulièrement la diminution du poids de l'ensemble testicules et épидидyme pour construire une VTR par inhalation.

- *Choix de l'étude*

L'étude de Barbee *et al.* (1984) est l'unique publication disponible qui décrit les effets sur les gonades masculines après une exposition par inhalation et a mis en évidence des effets sur les testicules, organes connus comme l'un des organes cible de l'EGEE chez l'homme. Cette étude présente des données de qualité acceptable (Klimisch 2 e). Dans ces conditions, **l'étude de Barbee *et al.* est retenue comme étude clé pour construire une VTR par inhalation pour les effets sur la fertilité.**

On notera cependant que cette étude n'a pas été conçue préalablement pour étudier spécifiquement la reprotoxicité de l'EGEE. Ainsi, les données relatives aux tests de reprotoxicité (fertilité, gestation, portées et lactation) sont insuffisantes ou absentes dans cette étude.

- *Choix de la dose critique*

L'étude de Barbee *et al.* a été effectuée sur des lapins New Zealand White et des rats Sprague-Dawley CD. Les effets sur la fertilité n'ont été observés que chez le lapin. Une diminution significative du poids des testicules et de l'épididyme ($p < 0,01$) a été observée en l'absence de toxicité maternelle à la plus forte dose de 1480 mg.m^{-3} . Les auteurs proposent un NOAEL de 380 mg.m^{-3} et un LOAEL de 1480 mg.m^{-3} pour cet effet. Les conditions d'expérimentation ne permettent pas d'établir une relation dose-réponse pour la diminution du poids des testicules et de l'épididyme (Tableau I). Toutefois, l'effet critique choisi est plus significatif à la plus forte dose ($p < 0,01$).

Tableau 1 : Relation dose-réponse pour la diminution du poids testiculaire et de l'épididyme chez le lapin (10 animaux par groupe de dose) [Barbee *et al.*, 1984]

Exposition (mg.m^{-3})	0	92,5	380	1480
Poids des testicules (g)	8,19	8,73	8,73	6,36*
Déviati on standard	0,82	1,19	0,69	0,99

* significatif, $p < 0,01$

Un premier calcul de benchmark dose (BMD) avait été effectué en 2007. Compte tenu du fait qu'une seule dose était statistiquement significative (4 doses testées dont la dose nulle), il paraît peu judicieux de calculer une BMD.

Le NOAEL chez le lapin de 380 mg/m³ issu de cette étude a donc été proposé comme dose critique.

- *Ajustements*

Dans l'étude de Barbee *et al.*, les animaux ont inhalé de l'EGEE 6 heures par jour et 5 jours par semaine pendant 13 semaines. Par précaution, un ajustement au temps a été fait pour extrapoler le NOAEL pour une exposition continue. Ainsi, un NOAEL_{ADJ} a été calculé de la manière suivante : $\text{NOAEL}_{\text{ADJ}} = \text{NOAEL} \times 6\text{h}/24\text{h} \times 5\text{j}/7\text{j} = 68 \text{ mg.m}^{-3}$.

- *Choix des facteurs d'incertitude*

- UF_A (variabilité inter-espèces) : chez l'homme, le métabolite de l'EGEE, le 2-EAA, responsable des effets toxiques, serait plus longtemps en contact avec le fœtus que chez l'animal (temps de demi-vie > 40h chez l'homme, 7h chez le rat). Un facteur 10 a été retenu.
- UF_H (variabilité intra-espèce) : le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études effectuées chez l'animal, pour tenir compte de la plus grande variabilité au sein de l'espèce humaine.
- UF_S (transposition d'une exposition subchronique à chronique) : les préconisations de l'Afsset sont un facteur de 1, 3 ou 10 en fonction des cas. Dans l'étude clé sélectionnée (Barbee *et al.*, 1984), les animaux ont été exposés 13 semaines ce qui correspond à une exposition subchronique. Cependant, pour étudier la fertilité chez le rat, une exposition pendant 13 semaines est suffisante pour couvrir tous les stades de maturation des spermatozoïdes chez le rat. On pourrait considérer que cette étude est équivalente à une étude chronique pour ce type d'effets. Les experts ont cependant souligné l'absence d'information sur le caractère réversible de cet effet que ce soit dans cette étude ou dans la littérature. Un facteur d'incertitude de 10 a ainsi été ajouté pour en tenir compte et pour permettre à la VTR de s'appliquer pour des expositions chroniques.
- UF_D : insuffisance de données : non applicable, les données étant jugées suffisantes.

Soit une VTR pour les effets sur la fertilité = 0,07 mg.m⁻³

VTR pour les effets sur le développement

- *Choix de l'effet critique*

Les différentes études montrent que l'EGEE est capable d'induire des effets sur le développement lors d'exposition *in utero* tels qu'une augmentation des pertes préimplantatoires, des résorptions fœtales et de la mortalité des embryons, une diminution du poids du fœtus et du nombre de fœtus vivants par portée et une augmentation de l'incidence des malformations des viscères et du squelette. L'augmentation de l'incidence des malformations squelettiques est observée aux doses les plus faibles. Ces effets ont été mis en évidence chez l'animal mais aucune étude montrant les effets sur le développement chez l'homme n'est disponible.

Le CES retient l'augmentation de l'incidence des malformations squelettiques comme effet critique.

- *Choix de l'étude*

Deux études décrites précédemment sont disponibles : Doe, 1984 ; Andrew et Hardin, 1984.

Dans leur étude, **Andrew et Hardin (1984)** n'ont pas établi de NOAEL et de LOAEL chez le rat car ceux-ci ont été exposés avant et après l'accouplement à des concentrations différentes. En revanche, cette étude a permis d'identifier un LOAEL chez le lapin de 590 mg.m⁻³ pour des

effets reprotoxiques observés en présence d'une toxicité maternelle. Cette étude n'est donc pas retenue pour la construction de la VTR.

Doe (1984) s'est intéressé aux effets sur le développement chez le lapin et le rat. Cette étude a été classée 2e selon la classification de Klimisch correspondant à une étude bien documentée et en accord avec les principes scientifiques acceptables pour l'évaluation. Toutefois l'utilisation de cette étude pour construire une VTR présente des limites. En effet, les données de cette étude sont jugées insuffisantes dans ce contexte. L'auteur ne précise pas les tests statistiques utilisés. Le nombre de femelles gestantes (rats ou lapins) inclus dans les analyses n'est pas justifié. Ainsi, à la dose de 184 mg.m⁻³, le nombre de lapines gestantes est beaucoup plus faible (16/24) qu'aux autres doses (21/24 chez les témoins et à 36,8 mg.m⁻³, 22/24 à 646 mg.m⁻³) et aucune hypothèse n'est donnée pour expliquer cette différence. Enfin, la description des malformations et des variations squelettiques chez le lapin, effet critique retenu par le groupe de travail VTR, n'est pas précisée. De surcroît, une forte incidence de l'ensemble des variations squelettiques a été observée chez les témoins (Tableau 2).

Tableau 2 : Incidence des malformations squelettiques chez le lapin Dutch [Doe, 1984]

Exposition (mg/m ³)		0	36,8	184	646
Nombre progénitures examinées		136	138	96	134
	Malformations squelettiques				
Malformations squelettiques	nombre animaux	44	72	35	87*
	%	32,4	52,2	36,5	64,5*
Variations squelettiques	nombre animaux	70	84	62	106*
	%	51,5	60	64,6	79,1*

* significatif $p < 0,05$

L'auteur précise qu'à 646 mg.m⁻³, les variations observées sont entièrement dues à l'augmentation de l'incidence des côtes surnuméraires. Les données des témoins historiques concernant l'incidence des côtes surnuméraires chez les lapins Dutch n'ont pas pu être obtenues auprès de l'éleveur des lapins de l'étude (Ranch rabbits). D'après les données de la littérature, l'incidence des côtes surnuméraires chez le lapin Dutch est comprise entre 14 et 46 %.

L'ensemble des insuffisances mises en évidence par le groupe de travail VTR sur les données concernant les effets de l'EGEE sur le développement a conduit le CES à ne pas proposer de VTR pour les effets sur le développement induits par l'EGEE à partir des études disponibles.

Le Comité d'Experts Spécialisés « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » adopte le rapport d'expertise collective lors de sa séance du 22 octobre 2009 et fait part de cette adoption à la direction générale de l'Afsset.

Conclusions et recommandation de l'expertise collective

➤ L'EGEE est un éther de glycol qui entraîne chez l'animal comme chez l'homme, des effets sur les organes reproducteurs mâles ainsi que des malformations squelettiques sur le fœtus.

- **VTR fertilité**

Le groupe de travail propose une VTR par inhalation spécifique aux effets sur la fertilité applicable pour une exposition chronique. Par manque de données chez la femme, cette VTR s'applique par défaut aux deux sexes.

Malgré la qualité acceptable de l'étude (Klimisch 2e) et la pertinence de l'effet critique retenu, un niveau de confiance faible est attribué à cette VTR du fait de l'absence de relation dose-réponse pour l'effet critique retenu et du peu d'études disponibles dans la littérature par inhalation.

Expertise collective : synthèse et conclusions

Saisine n° 2003/AS03

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Diminution du poids des testicules et de l'épididyme	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ LOAEL = 1480 mg.m ⁻³	1000	VTR = 0,07 mg.m ⁻³
Etude de toxicité subchronique par inhalation chez des lapins mâles New Zealand White	Pas de construction de BMDL	UF _A 10 UF _H 10 UF _S 10	
Barbee <i>et al.</i> , 1984	Ajustement temporel NOAEL _{ADJ} = 68 mg.m ⁻³		

- **VTR développement**

Des effets sur le développement ont été mis en évidence chez l'animal. Cependant, en l'absence de données de qualité suffisante, le groupe de travail n'a pas pu construire de VTR pour les effets sur le développement induits par l'EGEE.

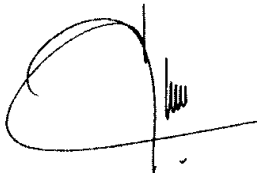
Le Comité d'Experts Spécialisés « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » adopte le rapport d'expertise collective lors de sa séance du 17 septembre 2009 et fait part de cette adoption à la direction générale de l'Afsset.

Maisons-Alfort, le 30/octobre/2009

Au nom des experts du CES
« Evaluation des risques liés aux substances chimiques »,

le président du CES

M. Michel Guerbet



BIBLIOGRAPHIE

Fin de la revue bibliographique : Avril 2009

- **Afsset** (Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail). (2008) Les éthers de glycol, Synthèse des connaissances sur les expositions de la population générale et professionnelle en France. Septembre 2008. 133 pages.
- **Andrew F.D. et Hardin B.D.** (1984) Developmental effects after inhalation exposure of gravid rabbits and rats to ethylene glycol monoethyl ether. *Environmental Health Perspectives*, 57, 13-23.
- **Barbee S.J., Terrill J.B., DeSousa D.J. et Conaway C.C.** (1984) Subchronic inhalation toxicology of ethylene glycol monoethyl ether in the rat and the rabbit. *Environmental Health Perspectives*, 57, 157-163.
- **Doe J.E.** (1984) Ethylene glycol monoethyl ether and ethylene glycol monoethyl ether acetate teratology studies. *Environmental Health Perspectives*, 57, 33-41.
- **ECETOC** (2005) The toxicology of glycol ethers and its relevance to man. Technical report n°64. Février 2005. Brussels. 502 pages.
- **Environnement Canada** (2003) Liste des substances d'intérêt prioritaire, Rapport d'évaluation, 2-éthoxyéthanol. Août 2002.
- **INRS** (1999) 2-éthoxyéthanol. Fiche toxicologique n°58
- **INRS** (2006) 2-éthoxyéthanol (EGEE), Fiche Demeter - N°DEM 010
- **INSERM** (1999) Expertise collective Ethers de glycol, quels risques pour la santé ? 348 pages
- **INSERM** (2006) Expertise collective Ethers de glycol, nouvelles données toxicologiques. 147 pages.
- **Ratcliffe J.M., Schrader S.M., Clapp D.E., Halperin W.E., Turner T.W. et Hornung R.W.** (1989) Semen quality in workers exposed to 2-ethoxyethanol. *British Journal of Industrial Medicine* 1989 Jun;46(6):399-406
- **Welch L.S, Schrader S.M., Turner T.W. et Cullen M.R.** (1988) Effects of exposure to ethylene glycol ethers on shipyard painters; II. Male reproduction. *American Journal of Industrial Medicine*. 1988; 14(5):509-26

Sigles et abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
Afsset	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
BMD	Benchmark Dose
BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la Benchmark Dose
BMR	Benchmark response
2-EAA	Acide 2-éthoxyacétique
EGEE	Ether Ethylique de l'Ethylène Glycol
GD	Jour de gestation (« Gestation Day »)
LD	Jour de lactation (« Lactation Day »)
LOAEC	Concentration minimale entraînant un effet néfaste observe (« Lowest Observed Adverse Effect Concentration »)
LOAEL	Dose minimale entraînant un effet néfaste observe (« Lowest Observed Adverse Effect Level »)
NOAEC	Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé (« No Observed Adverse Effect Concentration »)
NOAEL	Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé (« No Observed Adverse Effect Level »)
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OEHHA	Office on Environmental Health Hazard Assessment
PND	Jour post-natal (« Post natal Day »)
RfC	Reference Concentration
REL	Reference Exposure Level
VTR	Valeur Toxicologique de Référence
UE	Union Européenne
UF	Facteur d'incertitude (« Uncertainty Factor »)
US EPA	United State Environmental Protection Agency (Etats-Unis)

Liste des tableaux

Tableau 1 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles	28
Tableau 2 : Relation dose-réponse pour la diminution du poids testiculaire et de l'épididyme chez le lapin [Barbee <i>et al.</i> , 1984].....	29
Tableau 3 : Incidence des malformations squelettiques chez le lapin Dutch [Doe, 1984].....	32
Tableau 4 : Données historiques des côtes surnuméraires chez les lapins Dutch [Chernoff et Rogers, 2004 ; Gibson <i>et al.</i> , 1966].....	32
Tableau 5 : Récapitulatif des VTR existantes et des VTR construites par l'Afsset.....	34

Liste des figures

Figure 2 : Formule développée de l'EGEE	22
Figure 3 : Métabolisme de l'EGEE [INRS, 1999].....	23

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Une valeur toxicologique de référence, ou VTR, est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action biologiques des substances. Ainsi, si une substance est connue comme ayant une action directe sur le matériel génétique humain (l'ADN), alors on considère que les effets indésirables que peut engendrer une exposition à cette substance (qui sont généralement des cancers, sauf si le matériel génétique atteint est celui des cellules germinales) peuvent se produire même pour la plus petite dose reçue. On parle dans ce cas de « VTR sans seuil d'effet ». En revanche, si une substance n'a pas d'action directe sur le matériel génétique humain, alors on considère en général que l'effet indésirable survient au-delà d'une certaine dose reçue et que c'est la gravité de l'effet qui croît avec la dose plutôt que la probabilité de survenue. On parle alors de « VTR à seuil d'effet ».

Les VTR sont par ailleurs largement impliquées dans la démarche d'évaluation des risques sanitaires, processus décisionnel visant à fournir des éléments scientifiques utiles à la gestion des risques. L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et codifiée qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes. Leur élaboration et leur utilisation s'inscrivent donc dans une procédure exigeante, aux conséquences majeures en termes de santé publique.

L'Afsset s'est auto-saisie en 2003 afin d'établir un programme national sur les VTR visant à la constitution d'une expertise française solide et partagée par les différentes instances compétentes. Le domaine des substances chimiques reprotoxiques a été proposé comme priorité d'action. Pour répondre à cet objectif, l'Afsset a constitué un groupe de travail en 2004 afin d'élaborer une méthode de construction pour les VTR fondées sur des effets reprotoxiques. Dans le cadre de ces travaux, un appel à contributions restreint a été proposé par l'Afsset pour la construction de VTR reprotoxiques pour 6 substances (le linuron, le di-n-butylphtalate ou DnBP, le benzylbutylphtalate ou BBP, le nonylphénol, le toluène et le 2-éthoxyéthanol ou EGEE, la finalité étant de :

- s'assurer que la méthode proposée est, en l'état, suffisante pour permettre de construire une VTR reprotoxique ;
- permettre, par un retour d'expérience pratique, d'améliorer la méthode proposée.

Ces 6 substances ont été choisies parmi une liste hiérarchisée de 450 substances potentiellement reprotoxiques pour lesquelles des données toxicologiques sont disponibles. La construction et les propositions de VTR pour les 6 substances étudiées lors de la phase pilote font l'objet des annexes 2 et 3 du « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques. Afsset. Décembre 2006 » disponible en ligne sur <http://www.afsset.fr/>.

1.2 Objet de la saisine

Le 25 juillet 2007, le Directeur général de la santé (DGS) et le Directeur général de la prévention des risques (DGPR) saisissaient l'Afsset afin de faire valider par le CES concerné les VTR proposées lors de la phase pilote mise en place lors de l'élaboration de la méthode de construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques, à savoir le linuron, le DnBP, le BBP, le nonylphénol, le toluène et l'EGEE.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » l'instruction de cette saisine. Ce dernier a mandaté des rapporteurs pour la réalisation des travaux d'expertise pour le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, les nonylphénols et le toluène, et le groupe de travail « Valeur Toxicologique de Référence » pour l'éther éthylique de l'éthylène glycol.

Les travaux des experts rapporteurs et du groupe de travail ont été soumis et discutés par le CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques aux séances des 29 mai 2008, 10 juillet 2008, 25 septembre 2008, 23 octobre 2008, 27 novembre 2008, 22 janvier 2009, 25 juin 2009 et 17 septembre 2009. Le rapport produit par le groupe de travail et des rapporteurs tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Les conclusions présentées dans ce document sont ainsi issues 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 » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

2 Recueil des données toxicologiques

Cette partie est fondée sur le résumé des travaux effectués en 2006 par le prestataire dans le cadre de la phase pilote (INERIS). Pour plus d'information, le lecteur pourra se reporter au « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques, annexe 2 ». Le rapport est fondé sur les monographies déjà publiées par des instances nationales et sur la littérature parue ultérieurement à ces monographies, ainsi que sur l'expertise collective sur les éthers de glycol de l'INSERM (1999, 2006).

2.1 Généralités

L'éther éthylique de l'éthylène glycol (EGEE), appelé également 2-éthoxyéthanol, appartient à la famille des éthers de glycol et plus particulièrement à la série E (Ethylénique) (CAS 110-80-5). Sa formule chimique développée est la suivante :

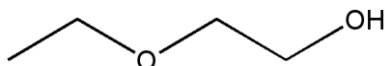


Figure 1 : Formule développée de l'EGEE

L'EGEE est classé depuis 1993 (19^{ème} ATP) par l'Union Européenne comme substance reprotoxique chez l'Homme de catégorie 2 pour le développement et pour la reproduction (R60 : peut altérer la fertilité, R61 : risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant). Ce composé est également classé comme substance nocive (R20/21/22 : nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion)².

L'EGEE est l'objet de multiples usages industriels³. Cependant son utilisation a fortement diminué depuis sa classification par l'UE comme R2 en 1993. Ainsi, sur 13 000 préparations enregistrées dans la base SEPIA de l'INRS entre 2000 et 2006, 24 préparations contenaient de l'EGEE (solvant, peintures, vernis, encres d'imprimerie, produits d'entretien ménagers et industriels) [Afsset, 2008]. Les expositions sont ainsi peu fréquentes. La population générale peut être exposée principalement par inhalation et absorption cutanée lors de l'utilisation de produits de consommation courante. L'exposition par voie orale est minime. Ainsi, une VTR sera construite pour la voie inhalée.

2.2 Toxicocinétique

Chez l'Homme, comme chez l'animal, l'EGEE est rapidement absorbé par les voies respiratoire, cutanée et digestive, et se distribue rapidement dans tout l'organisme. La voie métabolique

² Règlement « Classification, Labelling and Packaging » : Toxicité pour la reproduction catégorie 1B ; Mentions de danger : H226 - Liquide et vapeurs inflammables, H360FD - Peut nuire à la fertilité et au fœtus, H332 - Nocif par inhalation, H312 - Nocif par contact cutané, H302 - Nocif en cas d'ingestion

³ L'EGEE est soumis à une restriction d'usage interdisant la mise sur le marché et l'importation à destination du grand public de produits de consommation contenant de l'EGEE, ainsi que des préparations en contenant 0,5 % ou plus [Arrêté du 7 août 1997, modifié par l'arrêté du 19 avril 2001]. Depuis l'entrée en vigueur du règlement CLP (Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures), la limite de concentration doit être supérieure ou égale à 0,3 % pour déterminer la classification du mélange comme reprotoxique de catégorie 1B (anciennement catégorie 2 de la Directive 67/548/CE abrogée).

majeure est la formation de l'acide 2-éthoxyacétique (2-EAA) (23-35 % chez l'homme, 20-40% chez le rat) résultant de l'action de l'alcool et de l'aldéhyde déshydrogénase sur EGEE. L'2-EAA est le principal métabolite responsable des effets toxiques de l'EGEE. L'2-EAA est éliminé principalement dans les urines (chez l'homme : pic urinaire = 4-12h, temps de demi-vie > 40h, chez le rat : temps de demi-vie d'élimination 10-12h). D'autres voies métaboliques existent et entraînent la formation d'éthylène glycol, d'acide glycolique, etc. Ces métabolites sont éliminés dans les urines. Enfin, dans une moindre mesure, l'EGEE peut être éliminé dans l'air expiré sous forme inchangée et sous forme de monoxyde de carbone.

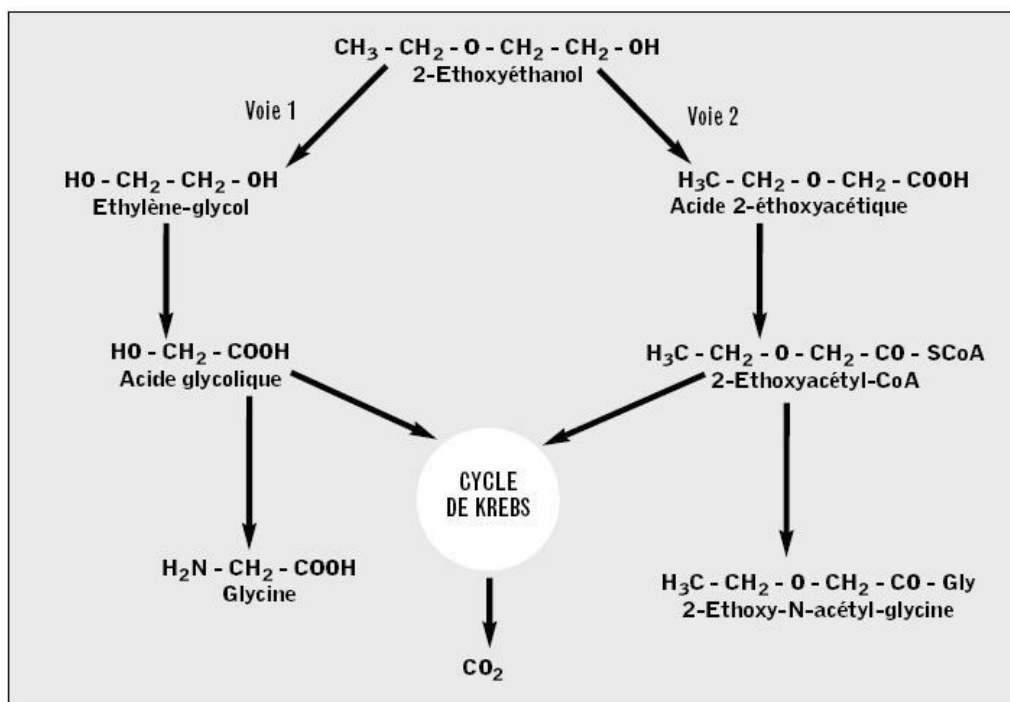


Figure 2 : Métabolisme de l'EGEE [INRS, 1999]

Bien que l'on possède peu d'informations sur les différences entre les espèces, il semblerait que le 2-EAA puisse être présent en plus fortes concentrations et pendant plus longtemps dans le sang humain que dans le sang de rat (plus grande absorption et plus grand métabolisme de l'EGEE en 2-EAA chez l'Homme que chez le rat, clairance rénale du 2-EAA plus lente chez l'Homme).

2.3 Effets sanitaires

2.3.1 Toxicité aiguë

Peu de données sur les effets de l'EGEE **chez l'Homme** sont disponibles. Elles proviennent principalement de cas d'empoisonnements accidentels lors d'expositions professionnelles ou volontaires lors de conduite suicidaire. Les principaux effets observés sont des effets sur le développement, sur les testicules et des altérations hématologiques (légère anémie, granulocytopenie minime). Suite à une exposition aiguë, d'autres effets réversibles peuvent être observés tels que acidose métabolique, insuffisance rénale et des effets délétères sur le système nerveux central (vertiges, pertes de connaissance) et le foie. Chez l'homme, aucune irritation ou sensibilisation de la peau n'a été rapportée malgré de fortes expositions à l'EGEE [INRS, 1999].

Chez les animaux, l'EGEE et ses métabolites présentent une faible toxicité aiguë quelle que soit la voie d'exposition. Pour de nombreuses espèces (rat, souris, cobaye, lapin), les DL₅₀ par voie orale sont comprises entre 1,4 et 5,5 g.kg pc⁻¹. Pour la voie cutanée, la DL₅₀ est de 3,3 à 3,9 g.kg pc⁻¹ chez le lapin. Par inhalation, la CL₅₀ est de 5,5 à 7,4 g.m⁻³ chez le rat et la souris. Les effets observés sont une dépression du système nerveux central, une réduction des fonctions

respiratoires et des lésions pulmonaires (œdèmes), gastro-intestinales (hémorragies) et rénales [ECETOC, 2005].

2.3.2 Toxicité chronique

Les études disponibles en exposition subaiguë et subchronique, par ingestion, inhalation ou contact cutané, ont montré principalement des effets sur les organes reproducteurs mâles et des effets hématologiques (anémie, leucopénie).

L'EGEE n'est pas irritant cutané mais peut causer une irritation oculaire et nasale lors d'une exposition subchronique par inhalation (92 mg.m^{-3}) chez le rat et le lapin [Environnement Canada, 2003].

2.3.3 Cancérogénicité et génotoxicité

Par voie orale, l'EGEE n'induit pas d'effet cancérogène chez les rongeurs à des doses allant de 0,5 à $2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ [INSERM 1999].

L'EGEE présente des résultats négatifs dans les tests de mutagénèse *in vitro* sur bactéries (test d'Ames) ou cellules de mammifères en culture (cellules de lymphomes de souris, cellules CHO de hamster chinois) [ECETOC, 2005 ; INSERM, 1999].

Quelques tests *in vitro* ont mis en évidence une activité clastogène à des doses élevées ($> 9,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$) : augmentation du taux d'aberrations chromosomiques (positif sur cellules CHO de hamster chinois sans activation métabolique mais négatif sur lymphocytes humains et négatif sur cellules V79 de hamster syrien), échanges de chromatides sœurs (positif sur cellules CHO de hamster chinois et lymphocytes humains), effets d'aneuploïdie (faiblement positif sur cellules V79) et un test du micronoyau faiblement positif sur cellules V79. Cependant, dans la plupart des cas, la réponse est éliminée après activation métabolique [ECETOC, 2005 ; INSERM, 1999].

Les tests *in vivo* réalisés (aberrations chromosomiques et micronoyau dans la moelle osseuse de souris, létalité récessive liée au sexe chez la drosophile) sont restés négatifs [ECETOC, 2005].

2.3.4 Effets reprotoxiques

2.3.4.1 Effets sur la reproduction

- Chez l'homme

Par voie orale, aucune donnée concernant les effets sur la fertilité chez l'homme n'est disponible. Par inhalation, deux études sont publiées. Les principaux effets sur la fertilité observés chez des populations professionnelles exposées à l'EGEE sont une toxicité testiculaire : diminution du volume du liquide séminal et de la concentration en spermatozoïdes, augmentation du pH du liquide séminal, augmentation des oligospermies et des spermatozoïdes anormaux. Ratcliffe *et al.* (1989) ont mis en évidence une diminution significative de la concentration des spermatozoïdes dans l'éjaculat des travailleurs exposés à une dose de $17,67 \text{ mg.m}^{-3}$ (4,8 ppm). Welch *et al.* (1988) ont observé une diminution du nombre de spermatozoïdes par éjaculat et du volume du liquide séminal pour une concentration d'exposition de $9,9 \text{ mg.m}^{-3}$ (2,6 ppm). Ces résultats sont toutefois à prendre avec précaution car les travailleurs ont été exposés à d'autres substances pouvant induire des effets reprotoxiques. Ainsi, aucun NOAEL, ni LOAEL n'ont pu être mis en évidence à partir de ces deux études.

Veulemans *et al.* (1993) ont réalisé une étude cas témoins chez des patients d'une clinique spécialisée dans les troubles de la reproduction (1 019 cas subfertiles/non fertiles vs 475 témoins). L'exposition possible aux éthers de glycol a été évaluée par la présence du métabolite de l'EGEE/A, le 2-EAA, dans les urines à des concentrations de 1,3 à $71,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ chez 36 cas et 6 témoins (OR = 3,11, $p = 0,004$) [Veulemans *et al.*, 1993]. Une forte association entre la présence d'2-EAA dans les urines et l'altération de la fertilité a été établie. Aucune corrélation significative

n'a été observée entre la concentration urinaire en 2-EAA et la qualité du sperme, ce qui pourrait s'expliquer par le temps de latence entre l'exposition et les effets observés.

Aucun effet sur la fertilité féminine n'a été observé.

- Chez l'animal

Les effets sur la reproduction de l'EGEE ont été décrits chez le rat ou la souris exposés par voie orale ou par inhalation. Une diminution de la fertilité a été observée chez les rongeurs.

Chez les femelles, très peu d'études ont été réalisées. Elles ont montré des effets sur le cycle œstral et une atrophie de l'utérus suite à une exposition par voie orale [NTP, 1993].

Des effets sur les organes reproducteurs mâles ont été mis en évidence tels qu'une diminution du poids des testicules et de l'épididyme, une dégénérescence des tubes séminifères, une diminution du taux de spermatozoïdes allant jusqu'à une azoospermie, une diminution de la motilité des spermatozoïdes et une augmentation des spermatozoïdes anormaux. En effet, l'EGEE induit une atrophie testiculaire avec une atteinte préférentielle des spermatocytes pachytènes conduisant, à terme, à une altération de la qualité du sperme et à une diminution de la fertilité chez le mâle.

La littérature ne rapporte pas d'élément sur la réversibilité des effets testiculaires induits par l'EGEE. Cependant, l'EGME (éthylène glycol méthyl éther) entraîne les mêmes effets sur les organes reproducteurs mâles et selon le même mécanisme d'action que l'EGEE (2.4). Les effets testiculaires induits par l'EGME sont réversibles au bout de 8 semaines après l'arrêt de l'exposition dans le cas d'atteintes des spermatocytes leptotènes et zygotènes et des spermatides jeunes à noyaux ronds [Foster *et al.*, 1983, INSERM 1999]. Cependant, à des niveaux d'exposition plus élevés (spermatogonies et spermatides à noyaux allongées, plus vieilles, touchées), la réversibilité des lésions est compromise en raison d'une perte du pool de cellules souches [INSERM, 1999]. Cependant, une analogie entre l'EGEE et l'EGME ne peut pas être envisagée car le seuil de toxicité testiculaire de l'EGEE est supérieur à celui de l'EGME (5 fois supérieur chez le rat) [INSERM, 1999].

Une revue récente de la littérature a permis d'identifier plusieurs études de reprotoxicité par voie orale. En revanche, seule une étude par inhalation a été trouvée, Barbee *et al.*, 1984 dans laquelle dix lapins New Zealand White et 15 rats Sprague-Dawley CD par sexe et par groupe de dose ont été exposés par inhalation 6h par jour et 5 jours par semaine, pendant 13 semaines, à 0, 92,5, 380 et 1480 mg.m⁻³ d'EGEE sous forme de vapeurs. Le lapin est l'espèce la plus sensible, pour laquelle une diminution significative du poids corporel chez les 2 sexes a été mise en évidence à 92,5 et 1480 mg.m⁻³ (pas à 380 mg.m⁻³). A 1480 mg.m⁻³, une diminution significative du poids des testicules et de l'épididyme a été mise en évidence (augmentation également observée aux 2 plus faibles doses mais non significative), ainsi qu'une dégénérescence focalisée de l'épithélium des tubes séminifères (3 lapins/10) sans altération de la spermatogenèse après observation de changements histologiques. A 1480 mg.m⁻³, une anémie périphérique sans altération centrale (absence d'atteinte de l'érythropoïèse) a été observée. Chez le rat, les effets observés sont non significatifs à toutes les concentrations d'exposition. Les auteurs proposent chez le lapin un NOAEL de 380 mg.m⁻³ et de 1480 mg.m⁻³ chez le rat.

2.3.4.2 Effets sur le développement

- Chez l'homme

Aucune donnée humaine sur les effets sur le développement de l'EGEE n'est disponible quelle que soit la voie d'exposition. Cependant, plusieurs études épidémiologiques sur des populations professionnelles décrivent des malformations suite à une exposition aux éthers de glycol lors de la grossesse, telles que des fentes palatines et oro-faciales et des anomalies du tube neural, [Cordier *et al.*, 1997 et 2001 ; Lorente *et al.*, 2000 ; Chevrier *et al.*, 2006] ou des avortements spontanés [Swan *et al.*, 1995 ; Schenker *et al.*, 1995 ; Huel *et al.*, 1990, Pastides *et al.*, 1988 ; Correa *et al.*, 1996].

- Chez l'animal

Les effets sur le développement ont été décrits pour toutes les voies d'exposition (peu de données pour les voies cutanée et orale). Divers effets toxiques ont été mis en évidence chez les rongeurs tels qu'une diminution du taux d'implantation, une augmentation de la résorption fœtale et de la mortalité des embryons, une diminution du poids du fœtus et du nombre de fœtus vivants par portée et une augmentation de l'incidence des malformations des viscères et du squelette. Pour la voie inhalée, des modifications du comportement et une augmentation des concentrations de certains neurotransmetteurs (acétylcholine, dopamine, sérotonine, nor-épinéphrine) dans le cerveau ont été aussi observées chez les rats nouveau-nés.

A partir de la revue de la littérature, deux études chez l'animal ont été retenues pour la voie inhalée.

Une première étude a été effectuée chez des lapines New Zealand White et des rates Wistar. Les lapines ont été exposées du 1^{er} au 18^{ème} jour de gestation à 590 et 2 277 mg.m⁻³ (160 et 617 ppm) [Andrew et Hardin, 1984]. Les rates ont été exposées avant l'accouplement pendant 3 semaines à des doses de 585 et 2173 mg.m⁻³ (150 et 649 ppm) puis après l'accouplement du 1^{er} ou 19^{ème} jour de gestation à 754 et 2830 mg.m⁻³ (202 et 767 ppm). Chez les rates, un retard de croissance intra-utérine et une augmentation des anomalies squelettiques ont été mis en évidence à 754 mg.m⁻³. A 2830 mg.m⁻³, une forte mortalité embryonnaire a été observée en présence d'une toxicité maternelle (diminution du gain de poids). Aucun LOAEL, ni NOAEL n'a pu être déterminé car les rates sont exposées deux fois (avant et après l'accouplement) à des concentrations différentes. Chez les lapines, une augmentation du nombre de résorptions par portée et de l'incidence de malformations ont été mises en évidence à toutes les doses en présence d'une toxicité maternelle (diminution de la prise de nourriture et du gain de poids, augmentation du poids du foie et des reins, modifications histopathologiques au niveau des ovaires et de l'utérus). Ainsi, en tenant compte de tous ces effets, un LOAEL de 590 mg.m⁻³ peut être proposé. Aucun NOAEL n'a été identifié.

Dans la deuxième étude, 24 lapines Dutch et 24 rates Alpk/AP par groupe de dose ont été exposées par inhalation, 6h par jour, du 6^{ème} au 15^{ème} jour de la gestation pour les rates et au 19^{ème} jour pour les lapines, à 0, 36,8, 184 et 920 mg.m⁻³ (rates) et 0, 36,8, 184 et 646 mg.m⁻³ (lapines) de vapeurs d'EGEE [Doe, 1984]. Les résultats ont montré une toxicité maternelle chez les rates à 920 mg.m⁻³ (diminution de l'hémoglobine, de l'hématocrite et du volume de globules rouges). Une augmentation significative des pertes préimplantatoires et une diminution significative du nombre de fœtus en vie dans les portées ont été observées à 36,8 et 184 mg.m⁻³ (non significatif 920 mg.m⁻³). Une augmentation significative du taux de morts intra-utérines tardives a été mise en évidence à 920 mg.m⁻³. Des effets fœtotoxiques ont été observés à 920 mg.m⁻³ tels que des retards de croissance fœtale, une diminution significative du poids fœtal moyen (lié au retard de croissance), une réduction de l'ossification et une augmentation significative des anomalies mineures externes, viscérales et du squelette. Un LOAEL de 36,8 mg.m⁻³ peut être proposé pour l'augmentation des pertes préimplantatoires et la diminution du nombre de fœtus par portée (significatif pour toutes les doses sauf la plus forte). Chez le lapin, des anomalies cardiovasculaires (non significatif), de la paroi abdominale (non significatif), des anomalies squelettiques mineures, des côtes rudimentaires surnuméraires sont observés chez la progéniture à 646 mg.m⁻³ (absence de toxicité maternelle). Le NOAEL dans cette étude est de 184 mg.m⁻³.

2.4 Mécanisme d'action

Les études mécanistiques chez l'homme indiquent que la toxicité sur la fertilité (toxicité testiculaire) est due à l'acide 2-éthoxyacétique (2-EAA), principal métabolite de l'EGEE. Chez l'animal, les mécanismes d'action ne sont pas bien connus. Cependant, les effets testiculaires seraient induits par un blocage de la spermatogénèse à un stade précoce (spermatocytes I). Les études *in vivo* et *in vitro* suggèrent que la toxicité de l'EGEE est due à ses métabolites dont le principal est l'2-EAA. Il affecte les cellules cibles en agissant comme un inhibiteur compétitif des acides tricarboxyliques

du cycle de Krebs et en interférant avec la biodisponibilité des petites unités carbonées nécessaires à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques.

3 Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR

La population générale étant exposée principalement par inhalation et absorption cutanée, le GT a décidé de construire des VTR pour la voie inhalée.

3.1 VTR existantes pour les effets reprotoxiques

L'US-EPA et l'OEHHA ont proposé une VTR chronique pour la voie inhalée basée sur des effets reprotoxiques et hématologiques induits par l'EGEE (Tableau 1). Aucune VTR pour les autres effets n'a été proposée.

Tableau 1 : Valeurs toxicologiques de référence disponibles

Organisme (année)	Voie d'exposition	VTR	Effet critique	Espèces	Dose critique	UF	Etude clé
US EPA/ IRIS (1991)	Inhalation	RfC = 0,2 mg.m ⁻³	Reproduction (diminution du poids des testicules, dégénérescence des tubes séminifères) Effet hématologique (diminution de l'hémoglobine)	Lapins	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ (103 ppm) NOAEL _{ADJ} = 68 mg.m ⁻³	300 UF _A = 10 UF _H = 3 UF _S = 10	Barbee <i>et al.</i> , 1984
OEHHA (2005)	Inhalation	REL = 0,07 mg.m ⁻³	Reproduction (diminution du poids des testicules, dégénérescence des tubes séminifères) Effet hématologique (diminution de l'hémoglobine)	Lapins	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ (103 ppm) NOAEL _{ADJ} = 68 mg.m ⁻³	1000 UF _A = 10 UF _H = 10 UF _S = 10	Barbee <i>et al.</i> , 1984
OEHHA (2008)	Aiguë (t = 6h) Inhalation	REL = 0,37 mg.m ⁻³	Développement (défauts du squelette dont retard d'ossification des vertèbres cervicales et des sternèbres et côtes surnuméraires)	Rates gestantes	LOAEL = 185 mg.m ⁻³ (50 ppm) NOAEL = 37 mg.m ⁻³ (10 ppm)	100 UF _A = 10 UF _H = 3	Tinston <i>et al.</i> , 1983 Doe, 1984

3.2 VTR pour les effets sur la fertilité

3.2.1 Choix de l'effet critique

Les différentes études analysées montrent que l'EGEE est capable d'induire des effets sur la fertilité, et plus particulièrement sur la fertilité masculine. Ces effets ont été observés chez l'animal

mais également bien identifiés et décrits chez l'homme avec une diminution du poids des testicules et de l'épididyme, une dégénérescence des tubes séminifères, une diminution du taux de spermatozoïdes et de leur motilité, une augmentation des spermatozoïdes anormaux et une azoospermie.

Aucun effet sur la fertilité féminine n'a été mis en évidence.

Le GT VTR retient donc les effets sur les organes reproducteurs mâles et plus particulièrement la diminution du poids des testicules et de l'épididyme qui sont les effets observés dans la seule étude permettant de construire une VTR par inhalation.

3.2.2 Choix de l'étude

L'étude de Barbee *et al.* (1984) est l'unique publication disponible qui décrit les effets sur les gonades masculines après une exposition par inhalation (Annexe 3) et a mis en évidence des effets sur les testicules, organes connus comme l'un des organes cible de l'EGEE chez l'homme. Cette étude présente des données de qualité acceptable (Klimisch 2e). Dans ces conditions, **l'étude de Barbee *et al.* est retenue comme étude clé pour construire une VTR par inhalation pour les effets sur la fertilité.**

On notera cependant que cette étude n'a pas été conçue préalablement pour étudier spécifiquement la reprotoxicité de l'EGEE. Ainsi, les données relatives aux tests de reprotoxicité (fertilité, gestation, portées et lactation) sont insuffisantes dans cette étude.

3.2.3 Choix de la dose critique

L'étude de Barbee *et al.* a été effectuée sur des lapins New Zealand White et des rats Sprague-Dawley CD. Les effets sur la fertilité n'ont été observés que chez le lapin. Une diminution significative du poids des testicules et de l'épididyme ($p < 0,01$) a été observée à la plus forte dose de 1480 mg.m^{-3} en l'absence de toxicité maternelle. Les auteurs proposent un NOAEL de 380 mg.m^{-3} et un LOAEL de 1480 mg.m^{-3} pour cet effet. Les conditions d'expérimentation ne permettent pas d'établir une relation dose-réponse pour la diminution du poids des testicules et de l'épididyme (Tableau 2). Toutefois, l'effet critique choisi est plus significatif à la plus forte dose ($p < 0,01$).

Tableau 2 : Relation dose-réponse pour la diminution du poids testiculaire et de l'épididyme chez le lapin [Barbee *et al.*, 1984]

Exposition (mg.m^{-3})	0	92,5	380	1480
Nombre d'animaux examinés	10	10	10	10
Poids des testicules (g)	8,19	8,73	8,73	6,36*
Déviati on standard	0,82	1,19	0,69	0,99

* significatif à 1480 mg.m^{-3} , $p < 0,01$

Un premier calcul de benchmark dose (BMD) avait été effectué (les résultats de l'ensemble de la démarche sont détaillés dans le « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques », annexe 3) en 2007 mais compte tenu du fait qu'une seule dose était statistiquement significative de la réponse à dose nulle (4 doses testées dont la dose nulle), il paraît peu judicieux de calculer une BMD.

Le NOAEL chez le lapin de 380 mg/m^3 issu de cette étude a donc été proposé comme dose critique.

3.2.4 Facteur d'ajustement

- Ajustement temporel

Dans l'étude de Barbee *et al.*, les animaux ont inhalé de l'EGEE 6h par jour et 5 jours par semaine pendant 13 semaines. Par précaution, un ajustement au temps a été fait pour extrapoler le NOAEL pour une exposition continue. Ainsi, un NOAEL_{ADJ} a été calculé de la manière suivante :

$$\text{NOAEL}_{\text{ADJ}} = \text{NOAEL} \times 6\text{h}/24\text{h} \times 5\text{j}/7\text{j} = 68 \text{ mg.m}^{-3}$$

- Ajustement allométrique

L'objectif est de réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèce afin de déterminer une concentration équivalente humaine (CEH). D'après l'US EPA [US EPA, 1994], pour un gaz entraînant un effet extra-respiratoire, tel que l'EGEE, la formule de calcul est la suivante :

$$\text{Dose}_{\text{CEH}} = \text{Dose} \times \lambda_{\text{A}} / \lambda_{\text{H}}$$

où λ_{A} représente le coefficient de transfert du gaz entre air et sang chez l'animal et λ_{H} , le coefficient de transfert du gaz entre air et sang chez l'homme.

En l'absence de données relatives à ces coefficients, l'US EPA préconise de considérer le rapport $\lambda_{\text{A}} / \lambda_{\text{H}}$ égal à 1, ce qui est le cas de l'EGEE.

$$\text{NOAEL}_{\text{CEH}} = \text{NOAEL}_{\text{ADJ}} \times 1 = 68 \text{ mg.m}^{-3}$$

3.2.5 Choix des facteurs d'incertitude

- UF_A (variabilité inter-espèces) : chez l'homme, le métabolite de l'EGEE, le 2-EAA, responsable des effets toxiques, serait plus longtemps en contact avec le fœtus que chez l'animal (temps de demi-vie > 40h chez l'homme, 7h chez le rat). Un facteur 10 a été retenu.
- UF_H (variabilité intra-espèce) : le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études effectuées chez l'animal, pour tenir compte de la plus grande variabilité au sein de l'espèce humaine.
- UF_S (transposition d'une exposition subchronique à chronique) : les préconisations de l'Afsset sont un facteur de 1, 3 ou 10 en fonction des cas. Dans l'étude clé sélectionnée (Barbee *et al.*, 1984), les animaux ont été exposés 13 semaines ce qui correspond à une exposition subchronique. Cependant, pour étudier la fertilité chez le rat, une exposition pendant 13 semaines est suffisante pour couvrir tous les stades de maturation des spermatozoïdes chez le rat. On pourrait considérer que cette étude est équivalente à une étude chronique pour ce type d'effets. Les experts ont cependant souligné l'absence d'information sur le caractère réversible de cet effet que ce soit dans cette étude ou dans la littérature. Un facteur d'incertitude de 10 a ainsi été ajouté pour en tenir compte et pour permettre à la VTR de s'appliquer pour des expositions chroniques.
- UF_D : insuffisance de données : non applicable, les données étant jugées suffisantes.

3.2.6 Synthèse

Effet critique	Dose critique*	UF	VTR
Diminution du poids des testicules et de l'épididyme	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ LOAEL = 1480 mg.m ⁻³	1000	VTR = 0,07 mg.m ⁻³
Etude de toxicité subchronique par inhalation chez des lapins mâles New Zealand White	Pas de construction de BMDL	UF _A 10 UF _H 10 UF _S 10	
Barbee <i>et al.</i> , 1984	Ajustement temporel NOAELADJ = 68 mg.m ⁻³		

LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL = No Observed Adverse Effect Level; BMD = Benchmark Dose; UF = *uncertainty factors* (facteurs d'incertitude). UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_S : transposition d'une exposition subchronique à chronique

* Coefficients allométriques : NEANT. Facteur de conversion temporelle : par précaution et en l'absence de lignes directrices précises sur ce thème, le NOAEL de 380 mg.m⁻³ a été transformé pour tenir compte d'une exposition continue (24 heures sur 24), selon la loi de Haber, car les lapins n'étaient exposés que 6 heures sur 24 et 5 jours sur 7.

3.3 VTR pour les effets sur le développement

3.3.1 Choix de l'effet critique

Les différentes études montrent que l'EGEE est capable d'induire des effets sur le développement lors d'exposition *in utero* tels qu'une augmentation des pertes préimplantatoires, des résorptions fœtales et de la mortalité des embryons, une diminution du poids du fœtus et du nombre de fœtus vivants par portée et une augmentation de l'incidence des malformations des viscères et du squelette. L'augmentation de l'incidence des malformations squelettiques est observée aux doses les plus faibles. Ces effets ont été mis en évidence chez l'animal mais aucune étude montrant les effets sur le développement chez l'homme n'est disponible.

Le GT VTR retient l'augmentation de l'incidence des malformations squelettiques comme effet critique.

3.3.2 Choix de l'étude

Deux études décrites précédemment sont disponibles : Doe, 1984 ; Andrew et Hardin, 1984.

Dans leur étude, **Andrew et Hardin (1984)** n'ont pas établi de NOAEL et de LOAEL car les rats ont été exposés deux fois, avant et après l'accouplement à des concentrations différentes. En revanche, cette étude a permis d'identifier un LOAEL chez le lapin de 590 mg.m⁻³ pour des effets reprotoxiques observés en présence d'une toxicité maternelle. Cette étude n'est donc pas retenue pour la construction de la VTR.

Dans son étude, **Doe (1984)** s'est intéressé aux effets sur le développement chez le lapin et le rat (Annexe 4). Cette étude a été classée 2e selon la classification de Klimisch correspondant à une étude bien documentée et en accord avec les principes scientifiques acceptable pour l'évaluation. Toutefois, son utilisation de cette étude pour construire une VTR présente des limites. En effet, les données de cette étude sont jugées insuffisantes dans ce contexte. L'auteur ne précise pas les tests statistiques utilisés. Le nombre de femelles gestantes (rats ou lapins) inclus dans les analyses n'est pas justifié. Ainsi, pour la dose de 184 mg.m⁻³, le nombre de lapines gestantes est

beaucoup plus faible (16/24) que celui des autres doses (21/24 chez les témoins et à 36,8 mg.m⁻³, 22/24 à 646 mg.m⁻³) et aucune explication n'est donnée pour expliquer cette différence. Enfin, la description des malformations et des variations squelettiques chez le lapin, effet critique retenu par le GT VTR, n'est pas précisée.

De surcroît, une forte incidence de l'ensemble des variations squelettiques a été observée chez les témoins (Tableau 4).

Tableau 3 : Incidence des malformations squelettiques chez le lapin Dutch [Doe, 1984]

Exposition (mg.m ⁻³)	0	36,8	184	646
Nombre progénitures examinées	136	138	96	134
Malformations squelettiques (nombre animaux)	44	72	35	87*
Malformations squelettiques (%)	32,4	52,2	36,5	64,5*
Variations squelettiques (nombre animaux)	70	84	62	106*
Variations squelettiques (%)	51,5	60	64,6	79,1*

* significatif $p < 0,05$

L'auteur précise qu'à 646 mg.m⁻³, les variations observées sont entièrement dues à l'augmentation de l'incidence des côtes surnuméraires. Nous avons cherché les données des témoins historiques concernant l'incidence des côtes surnuméraires chez les lapins Dutch. Ces données n'ont pas pu être obtenues auprès de l'éleveur des lapins de l'étude de Doe (Ranch rabbits) mais ont été publiées dans d'autres études (Tableau 4) : l'incidence des côtes surnuméraires chez le lapin Dutch est comprise entre 14 et 46 %.

Tableau 4 : Données historiques des côtes surnuméraires chez les lapins Dutch [Chernoff et Rogers, 2004 ; Gibson *et al.*, 1966]

Etude	Nombre de fœtus	Incidence des côtes surnuméraires
Gibson <i>et al.</i> , 1966	249	36,9% Droit : 6,8% Gauche : 7,2% 2 côtés : 22,9%
Hatman, 1974	60	46 % (côtes lombaires)
Hartman, 1974	250	14 % (côtes lombaires)
Hartman, 1974	1700	28 % (côtes lombaires)

L'ensemble des insuffisances mises en évidence par le GT sur les données concernant les effets de l'EGEE sur le développement a conduit le groupe de travail à ne pas proposer de VTR pour les effets sur le développement induits par l'EGEE à partir des études disponibles.

4 Conclusion

L'EGEE est un éther de glycol qui entraîne chez l'animal comme chez l'homme :

- des effets sur les organes reproducteurs mâles
- des malformations squelettiques.

- **VTR fertilité**

Le GT VTR propose la construction d'une VTR par inhalation spécifique aux effets sur la fertilité applicable pour une exposition chronique. Par manque de données chez la femme, cette VTR s'applique par défaut aux deux sexes.

-- Ether éthylique de l'éthylène glycol CAS 110-80-5 --			
Effet critique	Dose critique*	UF	VTR
Diminution du poids des testicules et de l'épididyme	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ LOAEL = 1480 mg.m ⁻³	1000	VTR = 0,07 mg.m⁻³
Etude de toxicité subchronique par inhalation chez des lapins mâles New Zealand White	Pas de construction de BMDL	UF _A 10 UF _H 10 UF _S 10	
Barbee <i>et al.</i> , 1984	<u>Ajustement temporel</u> NOAEL_{ADJ} = 68 mg.m⁻³		

LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL = No Observed Adverse Effect Level; BMD = Benchmark Dose; UF = *uncertainty factors* (facteurs d'incertitude). UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_S : transposition d'une exposition subchronique à chronique

Malgré la qualité acceptable de l'étude (Klimisch 2e) et la pertinence de l'effet critique retenu, un niveau de confiance faible est attribué à cette VTR du fait de l'absence de relation dose-réponse pour l'effet critique retenu dans l'étude de Barbee *et al.* et du peu d'études par inhalation disponibles dans la littérature.

- **VTR développement**

Des effets sur le développement ont été mis en évidence chez l'animal. Cependant, en l'absence de données de qualité suffisante, le groupe de travail n'a pas pu construire de VTR pour les effets sur le développement induits par l'EGEE.

5 Récapitulatif des VTR

Tableau 5 : Récapitulatif des VTR existantes et des VTR construites par l'Afsset

Organisme (année)	Durée /voie exposition	VTR	Effet critique	Espèces	Dose critique	UF	Etude clé
US EPA/ IRIS (1991)	Inhalation	RfC = 0,2 mg.m ⁻³	Reproduction (diminution du poids des testicules, dégénérescence des tubes séminifères) Effet hématologique (diminution de l'hémoglobine)	Lapins	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ (103 ppm) NOAEL _{ADJ} = 68 mg.m ⁻³	300 UF _A = 10 UF _H = 3 UF _S = 10	Barbee <i>et al.</i> , 1984
OEHHA 2005	Chronique Inhalation	REL = 0,07 mg.m ⁻³	Reproduction (diminution du poids des testicules, dégénérescence des tubes séminifères) Effet hématologique (diminution de l'hémoglobine)	Lapins	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ (103 ppm) NOAEL _{ADJ} = 68 mg.m ⁻³	1000 UF _A = 10 UF _H = 10 UF _S = 10	Barbee <i>et al.</i> , 1984
Afsset 2009	Chronique Inhalation	VTR = 0,07 mg.m ⁻³	Reproduction : diminution du poids relatif des testicules et de l'épididyme	Lapins	NOAEL = 380 mg.m ⁻³ NOAEL _{ADJ} = 68 mg.m ⁻³	1000 UF _A = 10 UF _H = 10 UF _S = 10	Barbee <i>et al.</i> , 1984
OEHHA 2008	Aiguë (t = 6h) Inhalation	REL = 0,37 mg.m ⁻³	Développement (défauts du squelette dont retard d'ossification des vertèbres cervicales et des sternèbres et côtes surnuméraires)	Rates enceintes	LOAEL = 185 mg.m ⁻³ (50 ppm) NOAEL = 37 mg.m ⁻³ (10 ppm)	100 UF _A = 10 UF _H = 3	Tinston <i>et al.</i> , 1983 Doe, 1984
Afsset 2009	Aiguë Inhalation	Pas de construction de VTR	Développement	-	-	-	Doe, 1984

6 Bibliographie

Fin de la revue bibliographique : Avril 2009

- Afsset (Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail). (2008) Les éthers de glycol, Synthèse des connaissances sur les expositions de la population générale et professionnelle en France. Septembre 2008. 133 pages.
- Andrew F.D. et Hardin B.D. (1984) Developmental effects after inhalation exposure of gravid rabbits and rats to ethylene glycol monoethyl ether. *Environmental Health Perspectives*, 57, 13-23.
- Barbee S.J., Terrill J.B., DeSousa D.J. et Conaway C.C. (1984) Subchronic inhalation toxicology of ethylene glycol monoethyl ether in the rat and the rabbit. *Environmental Health Perspectives*, 57, 157-163.
- Chernoff N. et Rogers J.M. (2004) Supernumerary ribs in developmental toxicity bioassays and in human populations: incidence and biological significance. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 7:437-449, 2004
- Chevrier C, Dananché B, Bahuau M, Nelva A, Herman C, Francannet C, Robert-Gnansia E, Cordier S. (2006) Occupational exposure to organic solvent mixtures during pregnancy and the risk of non-syndromic oral clefts. *Occupational and Environmental Medicine* 2006 Sep;63(9):617-23. Epub 2006 Apr 27.
- Cordier S, Bergeret A, Goujard J, Ha MC, Aymé S, Bianchi F, Calzolari E, De Walle HE, Knill-Jones R, Candela S, Dale I, Dananché B, de Vigan C, Fevotte J, Kiel G, Mandereau L. (1997) Congenital malformation and maternal occupational exposure to glycol ethers. *Occupational Exposure and Congenital Malformations Working Group. Epidemiology*. 1997 Jul;8(4):355-63
- Cordier S, Szabova E, Fevotte J, Bergeret A, Plackova S, Mandereau L. (2001) Congenital malformations and maternal exposure to glycol ethers in the Slovak Republic. *Epidemiology*. 2001 Sep;12(5):592-3.
- Correa A, Gray RH, Cohen R, Rothman N, Shah F, Seacat H, Corn M. (1996) Ethylene glycol ethers and risks of spontaneous abortion and subfertility. *American journal of epidemiology*. 1996 Apr 1;143(7):707-17
- Doe J.E. (1984) Ethylene glycol monoethyl ether and ethylene glycol monoethyl ether acetate teratology studies. *Environmental Health Perspectives*, 57, 33-41.
- ECETOC (2005) The toxicology of glycol ethers and its relevance to man. Technical report n°64. Février 2005. Brussels. 502 pages.
- Environnement Canada (2003) Liste des substances d'intérêt prioritaire, Rapport d'évaluation, 2-éthoxyéthanol. Août 2002.
- Foster P.M., Creasy D.M., Foster J.R., Thomas L.V., Cook M.W. et Gangolli S.D. (1983) Testicular toxicity of ethylene glycol monomethyl and monoethyl ethers in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*. 1983 Jul;69(3):385-99

- Huel G, Mergler D, Bowler R. (1990) Evidence for adverse reproductive outcomes among women microelectronic assembly workers. *British Journal of Industrial Medicine*. 1990 Jun;47(6):400-4.
- Gibson J.P., Staples R.E. et Newberne J.W. (1966) Use of the rabbit in teratogenicity studies. *Toxicology and applied pharmacology*, 9, 398-408
- INRS (1999) 2-éthoxyéthanol. Fiche toxicologique n°58
- INRS (2006) 2-éthoxyéthanol (EGEE), Fiche Demeter - N°DEM 010
- INSERM (1999) Expertise collective Ethers de glycol, quels risques pour la santé ? 348 pages
- INSERM (2006) Expertise collective Ethers de glycol, nouvelles données toxicologiques. 147 pages.
- Lorente C, Cordier S, Bergeret A, De Walle HE, Goujard J, Aymé S, Knill-Jones R, Calzolari E, Bianchi F. (2000) Maternal occupational risk factors for oral clefts. *Occupational Exposure and Congenital Malformation Working Group. Scandinavian journal of work, environment & health*. 2000 Apr;26(2):137-45.
- NTP (1993) NTP technical report on toxicity studies of ethylene glycol ethers 2-methoxyethanol, 2-ethoxyethanol, 2-butoxyethanol (CAS Nos. 109-86-4, 110-80-5, 111-76-2) administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program.
- OEHHA (2008) Chronic toxicity summary. Ethylene glycol monoethyl ether. Appendix D.3 Chronic RELs and toxicity summaries using the previous version of the Hot Spots Risk Assessment guidelines (OEHHA 1999). P240-247 <http://www.oehha.org/air/allrels.html>
- OEHHA (2008) Acute toxicity summary. glycol monoethyl ether. Appendix D.2 Acute RELs and toxicity summaries using the previous version of the Hot Spots Risk Assessment guidelines (OEHHA 1999). Jun 2008. p96-101 <http://www.oehha.org/air/allrels.html>
- Pastides H, Calabrese EJ, Hosmer DW Jr, Harris DR Jr. (1988) Spontaneous abortion and general illness symptoms among semiconductor manufacturers. *Journal of Occupational Medicine*. 1988 Jul;30(7):543-51.
- Ratcliffe J.M., Schrader S.M., Clapp D.E., Halperin W.E., Turner T.W. et Hornung R.W. (1989) Semen quality in workers exposed to 2-ethoxyethanol. *British Journal of Industrial Medicine* 1989 Jun;46(6):399-406
- Schenker MB, Gold EB, Beaumont JJ, Eskenazi B, Hammond SK, Lasley BL, McCurdy SA, Samuels SJ, Saiki CL, Swan SH. (1995) Association of spontaneous abortion and other reproductive effects with work in the semiconductor industry. *American Journal of Industrial Medicine*. 1995 Dec;28(6):639-59.
- Swan SH, Beaumont JJ, Hammond SK, VonBehren J, Green RS, Hallock MF, Woskie SR, Hines CJ, Schenker MB. (1995) Historical cohort study of spontaneous abortion among fabrication workers in the Semiconductor Health Study: agent-level analysis. *American journal of industrial medicine*. 1995 Dec;28(6):751-69.
- Veulemans H., Steeno O., Masschelein R. et Groeseneken D. (1993) Exposure to ethylene glycol ethers and spermatogenic disorders in man: a case-control study. *British Journal of Industrial Medicine* 1993;50:71-78

US EPA (1991) IRIS (Integrated Risk Information System): 2-Ethoxyethanol (CASRN 110-80-5)
<http://www.epa.gov/ncea/iris/subst/0513.htm>

Welch L.S, Schrader S.M., Turner T.W. et Cullen M.R. (1988) Effects of exposure to ethylene glycol ethers on shipyard painters; II. Male reproduction. American Journal of Industrial Medicine. 1988; 14(5):509-26

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



MINISTÈRE DE LA SANTÉ, DE LA JEUNESSE ET
DES SPORTS

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE, DU
DÉVELOPPEMENT ET DE L'AMÉNAGEMENT
DURABLES

Direction générale de la santé

Direction de la prévention des pollutions et des
risques

COURRIER REÇU LE

30 JUIL. 2007

2672

Paris le

25 JUIL. 2007

Le Directeur général de la santé

Le Directeur de la prévention des pollutions
et des risques

à

Madame la Directrice générale de l'Agence
Française de Sécurité Sanitaire de
l'Environnement et du Travail
253 Avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort

GL ←

Objet : Valeurs toxicologiques de référence

Copie : DGT

Par courrier en date du 16 avril 2007, vous nous avez proposé une méthode de construction d'une valeur toxicologique de référence pour les substances toxiques pour la reproduction et le développement et vous nous avez transmis un rapport intitulé « Identification d'une liste de substances toxiques pour la reproduction et le développement et proposition d'une méthode de hiérarchisation pour l'analyse des valeurs toxicologiques de référence ».

Suite à la réunion du 15 juin 2007 entre nos services, nous souhaitons vous confirmer les orientations suivantes.

Il nous paraît en premier lieu pertinent que votre agence poursuive ses travaux méthodologiques. Il nous semble notamment important que l'agence puisse diffuser et valoriser le rapport intitulé « Document de référence pour la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets reprotoxiques ». A ces fins, nous vous encourageons à assurer, ou faire assurer, la traduction en anglais de ce document pour un meilleur partage des méthodologies scientifiques au niveau européen et une visibilité accrue de l'agence sur la scène européenne et internationale.

Par ailleurs, nous souhaitons que l'agence poursuive ses travaux méthodologiques sur les VTR pour les substances cancérigènes et puisse élargir le champ de la méthode de construction élaborée pour les VTR fondées sur des effets reprotoxiques aux effets à seuil.

En ce qui concerne les substances pour lesquelles des VTR nationales devraient être construites, en premier lieu, et pour l'année 2007, nous vous invitons à faire valider par le comité d'experts spécialisés concerné les VTR utilisées lors de la phase pilote de l'élaboration de la méthodologie : toluène, ether éthylique de l'éthylène glycol, linuron, benzyl butyl phtalate, nonylphénol et di-n-

butyl-phtalate. Ainsi, ces six VTR pourront être utilisées en France dans les évaluations des risques sanitaires.

De manière plus globale, nous souhaitons définir à l'avenir un programme national restreint et prioritaire de VTR à élaborer. Ce programme de travail pourra être arrêté sur la base de la liste établie par votre agence ainsi qu'en fonction des priorités de gestion, notamment signalées par nos services déconcentrés en charge de l'instruction des dossiers d'évaluations des risques sanitaires. De plus, il nous semble intéressant de mener les travaux d'élaboration de VTR en synergie avec les autres travaux menés par l'agence sur les substances chimiques. Aussi, nous serions intéressés par la transmission de la liste totale des substances concernées par vos travaux relatifs aux CMR, VLEP, valeurs guides...

En fonction de ces différentes données, une liste prioritaire de substances VTR à élaborer par votre agence pour 2008 vous sera communiquée.

Par ailleurs, nous souhaiterions que votre agence puisse développer et tenir à jour une base de données des VTR nationales, issues du programme évoqué ci-dessus, ou issues de dossiers locaux, où des VTR auront été construites selon les lignes méthodologiques de votre agence et validées par vos soins.

Enfin, en réponse à votre courrier du 27 avril 2007 relatif à l'analyse de la méthode d'élaboration des VTR cancérogènes utilisée par l'INERIS, nous estimons que la construction par l'INERIS des VTR suivant les lignes méthodologiques en cours de définition au sein de votre agence peut être considérée comme phase pilote de l'élaboration de cette méthodologie nationale.

En conséquence, une fois votre méthodologie finalisée et validée, nous vous invitons à faire valider définitivement ces VTR (1,2-dichloroéthane, tétrachlorure de carbone, chloroforme et chlorure de méthylène) par le CES compétent.

Le Directeur général de la santé

LE CHEF DE SERVICE
ADJOINT DU DIRECTEUR GÉNÉRAL
DE LA SANTÉ PAR INTÉRIM

Didier HOUSSIN

Didier EYSSARTIER

**Le Directeur de la prévention des pollutions et
des risques**

Laurent MICHEL

Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Version	Description de la modification
Novembre 2009	01	Rapport relatif à l'élaboration de VTR reprotoxiques pour le linuron, le di-n-butylphtalate, le benzylbutylphtalate, les nonylphénols, le toluène et l'éther éthylique de l'éthylène glycol
Juin 2017	02	Séparation du précédent rapport pour avoir un rapport par substance Pas d'actualisation de l'expertise

Annexe 3 : Analyse de l'étude de Barbee *et al.* (1984)

Référence	Barbee <i>et al.</i> , 1984
Type d'étude	Etude de toxicité subchronique
Substances chimiques, pureté, composition	EGEE provenant d'Eastman Chemical Products, Inc. (Kingsport, TN) Pureté : 99,59%
Voie d'exposition	Inhalation (vapeur)
Espèce - souche étudiée - âge - poids	Lapins New Zealand White (2,1-3,3 kg) Rats Sprague-Dawley CD (149 - 257 g)
Conditions de vie	Animaux en cage individuelle dans une pièce maintenue à une température et une humidité relative contrôlées. Cycle lumineux 12h Aliments et eau disponible <i>ad libitum</i> sauf pendant la période d'exposition Acclimatation 15 jours pour les rats et 22 jours pour les lapins
Sexe et nombre d'animaux par lot	<u>Lapins</u> : 10 lapins de chaque sexe par groupe <u>Rats</u> : 15 rats de chaque sexe par groupe
Groupe témoin et nombre	<u>Lapins</u> : 10 lapins de chaque sexe par groupe <u>Rats</u> : 15 rats de chaque sexe par groupe
Fréquence et durée de l'exposition	Exposition 6h/jour, 5 jours par semaines pendant 13 semaines.
Doses ou concentrations d'expositions	0, 92,5, 380 et 1480 mg.m ⁻³ (25, 100 et 400 ppm) Concentrations analytiques : 25, 103 et 403 ppm
Observations	Observation 2 fois/jour des signes de toxicité et de morbidité Pesée une fois par semaine Examen ophtalmologique Tests cliniques de laboratoire (10 rats/sexe/groupe, tous les lapins) : <ul style="list-style-type: none"> - hématologiques : hémoglobine, hématocrite, nombre de réticulocytes, d'érythrocytes, de plaquettes, de leucocytes totaux, de leucocytes différenciés, volume corpusculaire moyen, concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, morphologie des érythrocytes, - biochimiques : ALAT, ASAT, phosphatase alcaline, azote uréique sanguin, glucose, cholestérol, protéine totale, albumine, globuline, créatinine, bilirubine totale, bilirubine directe, sodium, potassium, chlorure, calcium, phosphore inorganique - analyses urinaires (rats) : apparence, densité, pH, protéines, glucose, cétones, bilirubine, sang, urobilinogène, observation microscopique Autopsie Pesée du foie, reins, testicules dont épидидymes, cerveau, rate, thymus, surrénales et hypophyse + calcul ratio poids organe/poids corporel
Tests statistiques utilisés	Tests de Bartlett, ANOVA, Dunnett, Kruskal-Wallis, Dunn, régression, Jonckheere
Effets observés - toxicité générale/maternelle	<u>Lapins et rats</u> ↗ incidence de larmolement (lapin espèce + sensible) <u>Lapins</u>

	<p>Femelles et à toutes les doses : ↗ du poids relatif du cerveau et ↘ significative cholestérol</p> <p>92,5 mg.m⁻³</p> <p>↘ significative du poids des surrénales (mâle)</p> <p>92,5 et 1480 mg.m⁻³</p> <p>↘ significative du poids corporel chez les 2 sexes (non significatif chez les femelles à 1480 mg.m⁻³)</p> <p>1480 mg.m⁻³</p> <p>↘ significative d'hémoglobine, hématocrite et du nombre d'érythrocytes (anémie périphérique sans altération centrale avec ↗ de l'élimination des érythrocytes circulants)</p> <p>↗ significative concentration protéines totales (mâles),</p> <p><u>Rats</u></p> <p>380 mg.m⁻³</p> <p>↘ significative du poids absolu de la rate chez la femelle</p> <p>1480 mg.m⁻³</p> <p>↘ significative du poids relatif et absolu de l'hypophyse chez les mâles</p> <p>↘ du compte de leucocytes chez la femelle</p> <p>↘ significative de l'azote uréique sanguin (femelles)</p>
Effets reprotoxiques observés	<p><u>Lapins</u></p> <p>1480 mg.m⁻³</p> <p>↘ significative du poids testicules+épididyme (↗ non significative à 92,5 et 380 mg.m⁻³)</p> <p>dégénérescence focale légère de l'épithélium des tubes séminifères sans altération de la spermatogénèse (3 lapins/10)</p> <p><u>Rats</u></p> <p>Effets non significatifs aux 3 doses d'exposition</p>
Effet critique pris en compte	<p><u>Lapins</u></p> <p>↘ du poids des testicules et dégénérescence focale légère de l'épithélium des tubes séminifères sans altération de la spermatogénèse</p>
Couple NOAEL / LOAEL pour l'effet critique et incidence du LOAEL	<p><u>Lapins</u></p> <p>NOAEL = 380 mg.m⁻³ (100 ppm)</p> <p>LOAEL = 1480 mg.m⁻³ (400 ppm)</p> <p><u>Rats</u></p> <p>NOAEL = 1480 mg.m⁻³ (400 ppm)</p>
Qualité de l'étude (cotation Klimisch)	2e

Annexe 4 : Analyse de l'étude de Doe (1984)

Référence	Doe, 1984
Type d'étude	Etude sur le développement par inhalation
Substances chimiques, pureté, composition	EGEE provenant d'Imperial Chemical Industries PLC, Petrochemicals and Plastics Division, Wilton, Middlebrough, UK Pureté : ≥ 99% EGEA
Voie d'exposition	Inhalation
Espèce - souche étudiée - âge - poids	Rates Alpk/AP (200-280 g) âgées d'environ 11-13 semaines Lapines Dutch (1,7 - 2,8 kg) âgées de 5-7 mois
Conditions de vie	Dans une chambre d'exposition (3,4 m ³ , 22°C, 50% d'humidité relative) après l'accouplement
Sexe et nombre d'animaux par lot	24 animaux par groupe de dose
Groupe témoin et nombre	24 animaux par groupe de dose
Fréquence et durée de l'exposition	<u>Rates</u> 6h/jour, à partir du 6 ^{ème} jour de gestation jusqu'au 15 ^{ème} jour <u>Lapines</u> 6 h/ jour, à partir du 6 ^{ème} jour de gestation jusqu'au 19 ^{ème} jour
Doses ou concentrations d'expositions	<u>Rates</u> : 0, 36,8, 184, 920 mg.m ⁻³ (0, 10, 50 et 250 ppm) <u>Lapines</u> : 0, 36,8, 184, 646 mg.m ⁻³ (0, 10, 50 et 175 ppm)
Observations	<u>Rates</u> GD0 = jour où preuve de l'insémination (détection spermatozoïdes) Observations journalières de l'état clinique Mesure du poids corporel (GD 0, 5, 6 à 15, 16 et 21) GD 21 : Euthanasie. Echantillons sanguins prélevés pour une analyse hématologique Mesures du poids de la rate, du thymus et de l'utérus gravide. Dissection de l'utérus gravide. Nombre de corps jaune dans chaque ovaire, d'implantations, morts intra-utérines (tardives et précoces). Examen des fœtus vivants : pesée, anomalies, examen viscéral de la moitié des fœtus de chaque portée (examen des organes de la cage thoracique et de l'abdomen, sexe fœtus) et examen du squelette pour l'autre moitié (évaluation du développement morphologique et du degré d'ossification) <u>Lapines</u> GD0 = jour de l'accouplement Observations journalières de l'état clinique Mesure du poids corporel (GD 0, 5 à 19, 24 et 28) GD 29 : Euthanasie

	<p>Echantillons sanguins prélevés pour une analyse hématologique, frottis de moelle osseuse (os fémoral)</p> <p>Pesée de la rate et de l'utérus gravide.</p> <p>Dissection de l'utérus gravide. Nombre de corps jaune dans chaque ovaire, d'implantations, morts intra-utérines (tardives et précoces).</p> <p>Examen des fœtus vivants : pesée, anomalies, examen viscéral de la moitié des fœtus de chaque portée (examen peau, yeux, principaux organes de l'abdomen et du thorax et position des principaux vaisseaux du thorax et cœur, sexe fœtus) et examen du squelette pour l'autre moitié (évaluation du développement morphologique et du degré d'ossification)</p>
<p>Tests statistiques utilisés</p>	<p>?</p>
<p>Effets observés – toxicité générale/maternelle</p>	<p><u>Rates F0</u></p> <p>920 mg.m⁻³ : ↘ significative de l'hémoglobine, de l'hématocrite et du volume de globules rouges</p> <p><u>Lapines F0</u></p> <p>Pas de toxicité maternelle</p>
<p>Effets reprotoxiques observés</p>	<p><u>Rats F1</u></p> <p>36,6 - 184 et 920 mg.m⁻³ :</p> <p>↗ pertes préimplantatoires (non significative pour 920 mg.m⁻³ car le nombre de femelles gravides < chez les rates exposées par rapport à celles exposées aux autres doses),</p> <p>↗ non significative des pertes post-implantatoires (due à ↗ de l'incidence des morts utérines tardives et du % de petits atteints)</p> <p>↘ nombre de fœtus en vie (non significative pour 920 mg.m⁻³)</p> <p>36,6 et 920 mg.m⁻³:</p> <p>↘ significative du poids total des portées</p> <p>↗ anomalies mineurs externes et viscérales* (non significatif à 36,6 mg.m⁻³ ; du à ↗ significative de l'incidence des mauvaises rotations de membre à 36,6 mg.m⁻³ et ↗ significative de l'incidence de dilatation des reins à 920 mg.m⁻³ ; pas de signification toxicologique)</p> <p>920 mg.m⁻³ :</p> <p>↗ significative du taux de mort intra-utérine tardive</p> <p>↗ significative des anomalies mineurs du squelette* (due à une ↗ partielle ou non ossification crâne, « thoracic centra », « lumbar centra », vertèbres lombaires et sternèbre, ↗ des anomalies du sternèbre ↗ incidence des vertèbres pré sacrées ; ↗ significative ossification des vertèbres pré sacrées à 36,6 mg.m⁻³ ; ossification partielle du 2nd sternèbre, non ossification du centre cervical à 184 mg.m⁻³)</p> <p>Retard de croissance fœtale, ↘ non significative du poids fœtal moyen (lié au retard de croissance)</p> <p><u>Lapins F1</u></p> <p>646 mg.m⁻³ :</p> <p>↗ significative incidence des anomalies mineures du squelette*</p>

	↗ significative incidences des variations squelettiques* (côtes surnuméraires, apparition de côte d'une longueur supérieure à la normale)
Effet critique pris en compte	<p><u>Rats</u></p> <p>Augmentation des pertes préimplantatoires et diminution du nombre de fœtus par portée (significatives à 36,6 et 184 mg.m⁻³ mais pas à 920 mg.m⁻³)</p> <p><u>Lapins</u></p> <p>Augmentation de l'incidence des anomalies squelettiques mineures et des variations squelettiques (côtes surnuméraires)</p>
Couple NOAEL / LOAEL pour l'effet critique et incidence du LOAEL	<p><u>Rats</u></p> <p>LOAEL : 36,6 mg.m⁻³</p> <p><u>Lapins</u></p> <p>LOAEL : 646 mg.m⁻³</p> <p>NOAEL : 184 mg.m⁻³</p>
Toxicité maternelle	<p><u>Rats</u></p> <p>LOAEL maternel : 250 ppm</p> <p>NOAEL maternel : 50 ppm</p>
Qualité de l'étude (cotation Klimisch)	2e

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 / [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)