



anses

Valeurs toxicologiques
de référence

**Méthode pour un mélange
de substances
et application au mélange
benzène, toluène,
éthylbenzène et xylènes**

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Août 2022

Maisons-Alfort, le 10 août 2022

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à l'élaboration de valeurs de référence pour des mélanges de substances : état des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges, application aux valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAi) et aux valeurs toxicologiques de référence (VTR)

*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.*

L'Anses a été saisie par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction de la prévention des risques (DGPR) le 2 juillet 2018 pour la réalisation de l'expertise suivante : « Evaluation de la pertinence d'un potentiel risque cumulé pour les substances benzène, toluène et xylènes ».

L'Anses s'est par ailleurs autosaisie le 24 avril 2016 pour la réalisation de l'expertise suivante : « Élaboration de VGAi pour un mélange ».

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La prise en compte de l'exposition humaine à des mélanges, ainsi que les risques sanitaires potentiels associés constituent un enjeu méthodologique pour l'Anses, notamment dans le cadre de ses missions pérennes d'expertise d'élaboration de valeurs de référence. Ces valeurs sont utiles, d'une part, pour l'évaluation des risques sur la santé, et, d'autre part, aux pouvoirs publics afin de fixer des concentrations réglementaires de substances chimiques qu'il convient de ne pas dépasser pour préserver la santé des populations (générale, travailleurs). Jusqu'à présent, il n'était proposé que des valeurs de référence pour une substance individuelle, ne prenant pas en compte la multi-exposition de la population.

L'Anses a lancé en 2016 des travaux d'expertise collective en vue d'élaborer des valeurs de référence pour des mélanges de substances chimiques. Les réflexions associées ont été mises en œuvre selon plusieurs phases d'expertise collective avec des objectifs distincts.

■ **Synthèse des connaissances sur les approches considérant les mélanges, en évaluation des risques sanitaires et pour l'élaboration des valeurs de référence**

L'Anses a dressé un état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans les domaines de l'évaluation des risques sanitaires et de la construction de valeurs de référence. Ce rapport (intitulé « rapport méthodologique » dans cet avis) propose une série de recommandations méthodologiques, d'une part sur le choix des contaminants, et d'autre part sur les méthodes à employer pour la construction de valeurs de référence pour un mélange. Ces recommandations ont ensuite pu être appliquées à l'élaboration de valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI) et de valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour des mélanges de substances.

■ **Élaboration de VGAI pour un mélange de substances : étude de cas pour un mélange de substances irritantes**

En 10 ans d'expertise sur l'élaboration de VGAI (2007-2017), l'Anses a étudié une dizaine de polluants dont plusieurs aldéhydes (ou assimilés). La problématique des mélanges a été discutée pour l'acroléine et l'acétaldéhyde dont l'exposition est souvent simultanée et associée à une exposition au formaldéhyde. Les aldéhydes, du fait de leurs similitudes structurales, ont un comportement toxicodynamique similaire au niveau du tractus respiratoire qui est connu pour être leur cible principale. Leurs effets pourraient s'additionner, voire se potentialiser. Ainsi, dans le cadre d'une première étude de cas appliquée à la construction de VGAI mélange, l'Anses a mis en application les recommandations issues de l'état des lieux en vue d'élaborer des VGAI pour un mélange d'aldéhydes élargi à d'autres substances irritantes présentes dans l'air intérieur. Les réflexions ont été structurées conformément aux recommandations du rapport méthodologique et ont permis de tester l'applicabilité des modèles existants.

■ **Proposition d'une méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX)**

Dans le cadre de la gestion sanitaire des sites et sols pollués, les services de l'État et les Agences régionales de santé (ARS) sont régulièrement confrontés à la problématique de l'évaluation des risques pour la santé des populations simultanément exposées à plusieurs polluants. La question d'un potentiel effet cumulé des substances chimiques identifiées est, par ailleurs, fréquemment soulevée par les riverains, les associations ou encore les élus, dans des situations analogues de sites et sols pollués, effet parfois désigné sous le vocable d'« effet cocktail ».

Dans ce contexte, la DGS et la Direction de la prévention des risques (DGPR) ont saisi l'Anses le 2 juillet 2018 afin d'évaluer la pertinence d'un potentiel risque cumulé pour les substances benzène, toluène et xylènes. L'Anses a décidé d'instruire cette saisine en proposant une méthode d'élaboration de VTR pour les mélanges et en l'appliquant au mélange benzène, toluène, xylènes auquel l'Anses a ajouté l'éthylbenzène, cette substance étant généralement présente dans l'environnement conjointement avec le benzène, le toluène et les xylènes.

Le présent avis intègre et rend compte des résultats et conclusions issus de ces différentes expertises.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'expertise relève du domaine de compétences des comités d'experts spécialisés (CES) « valeurs sanitaires de référence » (CES VSR) et « évaluation des risques liés aux milieux aériens » (CES Air).

- Concernant la synthèse des connaissances (rapport méthodologique)

L'Anses a confié l'expertise à deux experts rapporteurs, membre chacun d'un des 2 CES. Les travaux d'expertise ont été soumis régulièrement aux CES VSR et CES Air tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Le rapport méthodologique « État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges - Réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence » tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES. Ces travaux ont été discutés en CES VSR entre le 8 décembre 2016 et le 3 mai 2018 et en CES Air entre le 17 décembre 2015 et le 14 janvier 2021. Le rapport méthodologique a fait l'objet d'une consultation publique du 7 juin au 19 septembre 2021. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par les CES VSR et Air. La version finale du rapport a été adoptée par le CES VSR le 11 mars 2022.

- Concernant la construction de VGAI pour un mélange d'irritants

L'Anses a confié l'expertise à deux groupes de travail (GT) :

- le GT « VGAI Mélange », pour la sélection des substances chimiques du mélange et l'élaboration de la démarche VGAI pour un mélange d'irritants ;
- le GT « Métrologie » qui assure la cohérence des travaux d'expertise de l'Anses relatifs aux VGAI et aux VLEP en ce qui concerne l'évaluation des méthodes de mesures disponibles pour la comparaison des niveaux d'exposition sur le lieu de travail et dans l'air intérieur.

Les travaux d'expertise des GT ont été soumis régulièrement, en fonction de leur nature, au CES VSR ou au CES Air, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Le rapport d'expertise collective « Construction de VGAI mélange : Étude de cas pour un mélange de substances irritantes » compilant les produits des 2 GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES. Ces travaux ont été discutés en CES VSR entre le 13 septembre 2018 et le 12 mars 2021 et en CES Air entre le 6 avril 2018 et le 18 mars 2021. Ce rapport et les conclusions¹ ont fait l'objet d'une consultation publique du 7 juin au 19 septembre 2021. Les commentaires reçus ont été

¹ À l'exclusion de la partie « Accompagnement métrologique et mise en perspective » qui a été réalisée ultérieurement.

examinés et discutés par les CES VSR le 11 mars 2022 et Air le 4 octobre 2021. Les travaux relatifs à la démarche méthodologique et à l'élaboration de VGAI pour un mélange d'irritants ont été adoptés par le CES VSR réuni le 11 mars 2022. Les travaux d'expertise relatifs à l'accompagnement métrologique et la mise en perspective ont été adoptés par le CES Air le 12 mai 2022.

- **Concernant l'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX)**

L'Anses a confié l'expertise au GT « BTEX », rattaché au CES VSR. Les travaux d'expertise du GT ont été soumis régulièrement au CES VSR entre le 21 juin 2018 et le 11 mars 2022, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Le rapport d'expertise collective « Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX) » produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES VSR. Un expert du GT VTR BTEX a exprimé une position divergente en ce qui concerne l'analyse de la publication Li *et al.* de 2010. Le motif de cette position divergente est détaillé en annexe 2 du rapport d'expertise collective.

La version finale du rapport a été adoptée par le CES VSR le 11 mars 2022. Lors de cette validation, un expert du CES VSR s'est abstenu. Cette abstention est détaillée en annexe 2 du rapport d'expertise collective.

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

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES CES

3.1. État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges : réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence

Les données bibliographiques utilisées dans le rapport sont issues de revues de la littérature conduites sur les bases de données bibliographiques Pubmed, Scopus et Web of science jusqu'en septembre 2020, complétées par l'identification de rapports institutionnels, par les contributions des experts impliqués dans ces travaux et des retours suite à la consultation publique.

Cette première étape de l'expertise visait à réaliser un état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans le domaine de l'évaluation des risques pour la santé humaine et la construction de valeurs de référence incluant les valeurs guides.

Dans le cadre de la gestion des risques liés aux pollutions des milieux, quelques familles chimiques sont déjà prises en compte en mélange et des valeurs guides ou des valeurs limites « mélange » sont proposées pour certaines de ces familles (ex. hydrocarbures aromatiques

polycycliques (HAP), pesticides, composés organiques volatils (COV), dioxines). Ces valeurs sont encore peu nombreuses et ne sont pas toutes fondées sur des considérations sanitaires : seules celles des HAP et des dioxines sont basées sur une notion d'équivalence toxique.

Des modèles prenant en compte les mélanges dans la démarche d'évaluation des risques sanitaires ont été proposés dans la littérature et sont utilisés depuis la publication des premiers guides d'agences américaines, telles que l'agence de protection de l'environnement (US EPA) dans les années 80.

En évaluation des risques liés à un mélange de substances, deux modèles intégrant ou non les interactions potentielles entre les contaminants, peuvent s'appliquer, selon les substances et les effets biologiques considérés :

- le modèle de l'additivité consiste à additionner les réponses biologiques de chaque contaminant d'un mélange pour évaluer le risque du mélange. L'additivité des doses implique que les substances du mélange agissent sur une même cible biologique et que seule l'amplitude de la réponse diffère. Ainsi, la toxicité de chaque substance est approximée relativement à une autre de manière quantitative. L'additivité des réponses repose sur l'hypothèse que les substances du mélange agissent indépendamment les unes des autres et que la réponse (probabilité d'apparition de l'effet) peut être prédite à partir de la réponse de chacun des constituants.
- lorsque l'effet d'un mélange ne peut être prédit par le principe de l'additivité, le modèle d'interactions s'applique. Il peut s'agir d'interactions positives (synergie ou supra-additivité) ou négatives (antagonisme ou infra-additivité). Ces interactions sont souvent étudiées pour des mélanges simples ($n = 2$) et à des doses plutôt élevées, pour comprendre les aspects mécanistiques explicatifs.

Le modèle de l'additivité, basé sur l'absence *a priori* d'interactions, considère que chaque substance du mélange n'a pas d'influence sur la toxicité des autres constituants. Si ce modèle est simpliste au regard de la réalité des mécanismes toxicologiques, il reste dans la plupart des cas plausible pour les expositions environnementales à faibles ou très faibles doses. Les études indiquent généralement que ce modèle prédit raisonnablement la toxicité des mélanges ayant des mécanismes d'action communs. Même si on peut observer des écarts entre réponses prédites et observées, elles restent d'une manière générale faibles (facteur 1 à 3). Ainsi, il est fait l'hypothèse qu'aux faibles doses une interaction (synergie ou antagonisme), si elle se produit, reste peu susceptible de générer un résultat très différent de l'additivité au regard des incertitudes inhérentes à la démarche même d'évaluation des risques. Ce modèle d'additivité est recommandé par les institutions d'évaluation des risques (US EPA, 2008 ; Kortenkamp, 2009 ; SCHER, 2011 ; EFSA, 2013).

Pour autant, les connaissances actuelles sur les mélanges ne permettent pas de vérifier l'absence d'interactions dans tous les cas de figures : peu d'études ont été réalisées aux doses environnementales avec des mélanges représentatifs des expositions réellement rencontrées sur le terrain. L'hypothèse d'additivité est utilisée par défaut, sauf si des données disponibles dans la littérature la remettent en cause.

Modèles d'évaluation des risques cumulés

Trois modèles d'évaluation des risques cumulés pour des mélanges de substances chimiques, fondés sur l'hypothèse d'additivité, sont principalement utilisés.

- *Hazard index* (HI)

Cette approche consiste à sommer les quotients de danger (QD) de chaque constituant du mélange (Équation 1). Son intérêt repose sur sa simplicité d'utilisation et sa capacité à être utilisable dans toutes les situations, dès lors qu'on dispose de VTR. L'inconvénient principal est que la VTR de chaque constituant est fondée sur un effet critique, qui peut être différent d'un constituant à l'autre, et conduire à une surestimation du risque. C'est pourquoi cette approche constitue la 1^{ère} étape dans les approches par paliers (si le HI est inférieur à 1, il n'est pas utile d'aller plus loin). Cette approche peut néanmoins être améliorée en considérant les données pour un organe cible ou effet spécifique commun. Elle est recommandée dans les guides méthodologiques pour la gestion des installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE), des sites et sols pollués et dans le cadre des réglementations sur les produits phytopharmaceutiques et biocides.

$$HI = \sum_{i=1}^n QD_i = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{VTR_i}$$

Équation 1 : Principe de calcul du HI

où HI est le *Hazard index* (indice de risque), QD_i le quotient de danger du constituant i, DJE_i la dose journalière d'exposition au constituant i et VTR_i la VTR du constituant i.

- *Point of departure index* (PoDI)

Ce modèle a été proposé pour éviter les inconvénients du HI, liés au fait qu'il puisse reposer sur des effets critiques différents. Ce modèle consiste à comparer l'exposition des substances directement aux indicateurs de toxicité animale recueillis dans la littérature pour l'effet commun (Équation 2). Ces indicateurs sont les NOAEL, LOAEL et BMDL² (« *point of departure* » ou PoD). Dans l'idéal, il est souhaitable que les PoD soient de même nature. Le facteur d'incertitude n'étant pas pris en compte dans cette approche, le résultat est présenté avec une marge de sécurité équivalente à ce facteur global (généralement 100). Ce modèle est globalement peu appliqué par rapport aux autres.

$$PoDI = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{PoD_i}$$

Équation 2 : Principe de calcul du PoDI

où PoDI est le *Point of Departure Index* (indice de point de départ), DJE_i la dose journalière d'exposition du constituant i et PoD le point de départ du constituant i.

- *Relative potency factors/ toxic equivalency factors* (RPF / TEF)

Il s'agit de l'application historique du modèle d'additivité des doses où chaque constituant peut être considéré comme une dilution du constituant le plus toxique du mélange ou celui pour lequel les données toxicologiques comportent le moins d'incertitudes. Dans ce cadre, on exprime la dose du mélange (D_{mix} ou TEQ) comme la somme des doses pondérées par les facteurs de toxicité relative des constituants, appelé Facteur d'équivalence toxique ou facteur de puissance relative en français (cf Équation 3). Chaque facteur est construit en comparant le PoD du constituant à celui du composé de référence du mélange (Équation 4).

² LOAEL : *Lowest observed adverse effect level*; NOAEL : *No observed adverse effect level*, BMD : *Benchmark Dose*

$$D_{\text{mix}} = \sum_{i=1}^n \text{DJE}_i \cdot \text{RPF}_i \quad (M) \quad \text{OU} \quad \text{TEQ} = \sum_{i=1}^n \text{TEF}_i \cdot \text{DJE}_i$$

Équation 3 : Principe de calcul de D_{mix} et TEQ

où D_{mix} est la dose du mélange ou TEQ (*Toxicity Equivalency Quantity*) l'équivalent toxique du mélange, DJE_i la dose journalière d'exposition de chaque constituant i pondérée par son facteur de puissance relative (RPF_i) ou son facteur d'équivalence toxique (TEF_i).

$$\text{RPF}_i = \frac{\text{PoD}_{ci}}{\text{PoD}_i}$$

Équation 4 : Calcul des facteurs de puissance relative pour les substances i du mélange (RPF_i)

où PoD est l'indicateur toxicologique (NOAEL, LOAEL, BMDL, *etc.*) utilisé pour comparer la toxicité des substances, l'indice « ci » correspondant au composé index ou composé de référence et l'indice « i » se rapportant à l'un des composés du mélange.

Le QD pour le mélange (HQ_{mix}) est ensuite calculé comme le ratio entre la « dose du mélange » (D_{mix}) et la VTR du constituant de référence. Cette approche est intéressante, à partir du moment où il est possible d'identifier des effets communs et des mécanismes en lien avec des événements biologiques / physiologiques suffisamment connus. Bien que théoriquement basés sur un mécanisme spécifique, la plupart des RPF/TEF qui découlent de ces travaux ont été construits à partir de la comparaison de données toxicologiques variées, dès lors qu'une relation dose-réponse était disponible : différentes approches expérimentales (*in vivo / in vitro*), différentes durées ou voies d'exposition, ou encore différents indicateurs toxicologiques (LOAEL, NOAEL, BMD). Cela constitue un inconvénient majeur lorsque l'on s'intéresse à la notion de toxicité relative où ces différences peuvent générer des distorsions dans les potentiels toxiques.

En plus de ces trois modèles reposant sur l'hypothèse d'additivité, des modèles basés sur des interactions sont parfois spécifiques de mélanges particuliers : implication de paramètres précis (facteurs d'interactions basés sur les doses létales DL_{50}^3 , calcul de coefficient synergique ou antagoniste basé sur l'expérimentation, modélisation *Physiologically based pharmacokinetics* (PBPK)). L'utilisation de ce type de modèles nécessite des données expérimentales suffisamment nombreuses pour établir le niveau de preuve d'une interaction, ce qui est rarement le cas, dans les mélanges de substances à faibles doses associés aux expositions environnementales.

Sur la base de cet état de l'art, des recommandations visant à élaborer des valeurs de référence pour un mélange sont proposées. Elles concernent d'une part, le choix des contaminants, et d'autre part, les méthodes à employer pour la construction des valeurs de référence pour un mélange :

- ➔ identifier les substances pour lesquelles la population est co-exposée en se basant sur des études représentatives des expositions de la population ou des groupes de sous-population ;

³ DL50 : Dose létale pour 50 % des animaux exposés par voie orale ou cutanée (INRS, 2018)

- ➔ regrouper les substances sur la base d'effets ou de mécanismes communs en fonction des connaissances disponibles ;
- ➔ réaliser des profils toxicologiques intégrant les données sur les interactions potentielles pour les co-expositions les plus fréquentes ;
- ➔ utiliser l'hypothèse d'additivité, si les données recueillies dans les profils ne la remettent pas en cause (donc en approche par défaut) :
 - selon une approche simplifiée d'additivité (à la façon du Hazard Index ou HI) pour les substances dont le mécanisme n'est pas suffisamment connu ;
 - selon une approche d'additivité des doses à la façon des facteurs d'équivalence toxique ou de puissance relative (*Toxic Equivalency Factors* (TEF) ou *Relative Potency Factors* (RPF)) pour toutes les substances ayant des mécanismes ou des conséquences cellulaires communes.
- ➔ compléter la mise en œuvre de ces approches par l'identification du ou des constituants du mélange les plus contributeurs au risque.

3.2. Construction de VGAI mélange : étude de cas pour un mélange de substances irritantes

Considérant la problématique de l'exposition à des mélanges d'aldéhydes dans les environnements intérieurs, soulevée à l'occasion de la construction des VGAI pour le formaldéhyde, l'acroléine et l'acétaldéhyde, cette étude de cas s'est intéressée à un mélange d'aldéhydes pouvant être élargi à d'autres substances irritantes respiratoires et/ou oculaires présentes dans les environnements intérieurs. Conformément aux recommandations issues du rapport méthodologique, la démarche suivante a été mise en œuvre : (1) choix des substances constituant le mélange, (2) sélection d'un modèle de construction de VGAI pour un mélange d'irritants. Cela a permis de proposer une démarche VGAI pour un mélange d'irritants accompagnée de considérations métrologiques.

3.2.1. Choix des substances constituant le mélange d'irritants

Ce travail de sélection a consisté dans un premier temps à croiser la liste des substances présentes dans l'air intérieur élaborée par l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) pour sa seconde campagne nationale « Logements » (CNL2) avec les données sur les propriétés irritantes réglementaires des substances chimiques (classification européenne « CLP » - Règlement (CE) 1272/2008). Dans un deuxième temps, la sélection des substances a été affinée en considérant les substances fréquemment détectées dans les environnements intérieurs (logements, bureaux, écoles) et en procédant à une recherche complémentaire pour les substances de la famille des aldéhydes, bien connues pour leurs propriétés irritantes. Finalement, la liste des substances sélectionnées a été complétée après consultation de plusieurs instances d'expertise au sein de l'Agence (CES Air, CES VSR et GT « Vigilance des produits chimiques »).

Le mélange d'étude est constitué de 15 substances irritantes pouvant être regroupées en 6 familles chimiques différentes :

- aldéhydes : acroléine, acétaldéhyde, formaldéhyde, propionaldéhyde, crotonaldéhyde, glyoxal, hexaldéhyde et butyraldéhyde ;
- hydrocarbures aromatiques : styrène, 1,2,4-triméthylbenzène, benzène ;
- phénols : phénol ;
- éthers de glycol : 2-butoxyéthanol ;

- composés inorganiques : dioxyde d'azote (NO₂) ;
- terpènes : limonène.

3.2.2. Sélection d'un modèle de construction de VGAI pour un mélange d'irritants

Afin d'orienter la sélection d'un modèle de construction de VGAI, une revue de la littérature sur les effets et mécanismes d'action « irritants » pour les 15 substances du mélange d'étude a été réalisée en intégrant les données sur les interactions potentielles.

Il est possible de différencier deux types d'irritations selon les effets observés et les mécanismes impliqués : l'irritation sensorielle (effet chimio-sensoriel) et l'irritation lésionnelle (lésions généralement locales des tissus).

Les données identifiées sur les effets irritants (oculaires et respiratoires) pour une exposition *via* l'air proviennent essentiellement d'études expérimentales conduites chez l'animal (rongeurs, principalement des souris et des rats) mais également chez l'être humain. Quelques données sont issues d'études épidémiologiques ou de rapports de cas.

Le mode d'action à l'origine des effets d'irritation sensorielle est commun à l'ensemble des substances. Il découle principalement de la mise en jeu d'un réflexe d'alerte et de protection de l'organisme vis-à-vis des substances chimiques en contact avec les muqueuses des yeux et des voies respiratoires. Ce réflexe est médié par le nerf trijumeau. Les effets d'irritation sensorielle apparaissent à des doses plus faibles que l'irritation induisant des dommages irréversibles.

Outre les paramètres quantitatifs classiques (NOAEL et LOAEL), un paramètre utilisé pour l'évaluation des effets irritants aigus, et plus spécifiquement l'irritation sensorielle respiratoire, a été identifié : la RD50. Mesurée chez l'animal, cette valeur correspond à la concentration d'exposition responsable d'une diminution de 50% de la fréquence respiratoire. Les études ayant mesuré des RD50 sont nombreuses et concernent toutes les substances du mélange d'étude hormis le glyoxal et le benzène.

Des corrélations sont observées entre la RD50 et (i) des LOAEL pour des irritants sensoriels identifiés chez l'être humain, (ii) des VLEP pour des irritants sensoriels identifiés chez l'être humain et (iii) des VTR pour des expositions aiguës. Des RD50 ont été utilisées pour élaborer des valeurs limites dans différents contextes (professionnel, qualité de l'air des bureaux, *etc.*). Les éléments analysés indiquent que la diminution de la fréquence respiratoire chez la souris, et donc la RD50, peut être utilisée comme marqueur de la réponse nociceptive (autrement dit, d'irritation sensorielle) chez l'animal. Concernant l'extrapolation des données à l'être humain, des réponses à l'irritation sensorielle sont également observables, même si elles sont qualitativement différentes de celles observées chez la souris. Contrairement aux effets irritants lésionnels, la RD50 chez la souris et plus largement les réponses réflexes à l'irritation sensorielle dans toutes les espèces, ne sont pas dépendantes de la durée de l'exposition aiguë à des irritants. De plus, en cas d'exposition aiguë, la prévention de l'irritation sensorielle prévient aussi les effets irritants lésionnels. Ce n'est pas nécessairement le cas quand l'exposition est prolongée ou répétée.

Une RD50 est disponible pour 13 des 15 substances du mélange d'étude et les études expérimentales disponibles, notamment chez l'être humain, rapportent des effets d'irritation sensorielle au niveau des yeux et/ou des voies respiratoires supérieures pour plusieurs substances du mélange d'étude.

La RD50 est le test de référence pour la mesure de l'irritation sensorielle respiratoire. Bien que parcellaires, les données actuellement disponibles concernant l'irritation sensorielle oculaire semblent indiquer que les concentrations irritantes pour les yeux sont les mêmes que celles qui sont irritantes pour les voies aériennes.

Considérant l'ensemble des éléments recensés sur la RD50, l'usage de cet indicateur **afin de comparer l'intensité des effets d'irritation sensorielle respiratoire de diverses substances chez l'être humain pour des expositions de courte durée par inhalation a été jugé pertinent.**

Conformément aux recommandations du rapport méthodologique, après avoir rassemblé les données toxicologiques pertinentes relatives aux substances du mélange d'étude, l'hypothèse d'additivité peut être appliquée par défaut. En effet, peu d'études ont investigué les synergies ou les antagonismes liés aux mélanges d'irritants et il est difficile d'en tirer des conclusions généralisables pour l'ensemble des substances du mélange d'étude. Les données identifiées pour les effets d'irritation sensorielle concernent les interactions entre 3 substances du mélange d'étude (formaldéhyde, acétaldéhyde et acroléine) et ne remettent pas en cause l'applicabilité de l'hypothèse d'additivité.

Pour élaborer la « démarche VGAI pour un mélange d'irritants », une **approche par facteurs de puissance relative (RPF)** a été mise en œuvre.

La RD50 est utilisée en tant que PoD, afin de réduire les incertitudes, tout en assumant les limites de l'usage de ce paramètre. De plus, comme explicité précédemment, le mécanisme d'action à l'origine des effets d'irritation sensorielle est commun à l'ensemble des substances, justifiant la mise en œuvre d'une approche d'additivité des doses plus élaborée que le HI. Les substances ne disposant pas de RD50 (benzène et glyoxal) ont été exclues du mélange final à considérer. A l'inverse, plusieurs substances disposant de RD50 et fréquemment rencontrées dans les environnements intérieurs, ont été intégrées au mélange final considéré (ozone, α -pinène, p-xylène, m-xylène, o-xylène, xylènes, éthylbenzène, toluène).

3.2.3. Présentation de la démarche « VGAI pour un mélange d'irritants »

Le résultat de cette étude de cas est une proposition de démarche permettant de prendre en compte les effets irritants sensoriels aigus d'un mélange de substances fréquemment rencontrées dans l'air intérieur. Ce n'est pas une VGAI telle que définie dans le guide méthodologique de l'Anses (2016a)⁴ puisque qu'il ne s'agit pas ici de proposer une valeur déterminée pour une substance ou un mélange précis.

Une première étape de la démarche consiste à calculer la « concentration normalisée du mélange » (C_m) à partir des données de concentration individuelle de chaque substance et des RPF calculés (RPF_i) (Tableau 1). Il s'agit conceptuellement de calculer, tel que mentionné dans l'

$$C_m = \sum_{i=1}^n (C_i \times RPF_i)$$

« C_m » : concentration normalisée du mélange
« C_i » : concentration d'une substance i
« RPF_i » : facteur d'équivalence toxique de la substance i

⁴ Une VGAI est définie comme une valeur numérique associée à un temps d'exposition correspondant à une concentration dans l'air d'une substance chimique en dessous de laquelle aucun effet sanitaire ou aucune nuisance ayant un retentissement sur la santé (dans le cas de composés odorants) ne sont en principe attendus pour la population générale.

Équation 5, une concentration « équivalente formaldéhyde » pour chaque substance (Ci) et de les sommer.

Équation 5 : Calcul de la concentration normalisée du mélange (Cm)

Tableau 1 : RPF calculés pour les substances du mélange d'irritants

Substances	RD50 mesurés chez la souris (ppm)	RPF
Acroléine	1,7	2,5
Ozone	4	1,1
Crotonaldéhyde	4,2	1
Formaldéhyde	4,3	1
Phénol	166	0,03
NO ₂	349	0,01
Styrène	574	0,007
1,2,4-triméthylbenzène	578	0,007
α-pinène	1052	0,004
Hexaldéhyde	1073	0,004
Butyraldéhyde	1274	0,003
Ethylbenzène	1306	0,003
p-xylène	1325	0,003
Limonène	1355	0,003
m-xylène	1360	0,003
o-xylène	1467	0,003
Xylènes	1470	0,003
Propionaldéhyde	2294	0,002
2-Butoxyéthanol	2825	0,002
Acétaldéhyde	3574	0,001
Toluène	4976	0,0009

Cette valeur Cm est ensuite comparée à la VGAI court terme pour l'irritation sensorielle du composé de référence, le formaldéhyde, qui est de 100 µg.m⁻³ (Anses, 2018). Si la concentration normalisée est inférieure à la VGAI, alors il n'est pas attendu d'effet d'irritation sensorielle dans la population.

Plus largement, cette démarche est applicable pour l'évaluation des risques d'irritation sensorielle liés à l'exposition aiguë par inhalation de n'importe quel mélange, sous réserve qu'un RPF puisse être calculé pour les substances considérées. Il est à noter que seuls les effets irritants sensoriels des substances en mélange sont pris en compte *via* la mise en œuvre de cette démarche. Les autres effets sanitaires aigus ou les effets sanitaires chroniques (y compris les effets irritants), induits individuellement par chacune de ces substances ne sont pas inclus dans la démarche. Ainsi, les valeurs de référence individuelles par inhalation (VGAI, VTR) construites pour les substances considérées sont à respecter (Figure 1).

Evaluation des risques sanitaires

Données individuelles de concentrations pour les substances du mélange

2 approches à conduire en parallèle

Risques liés aux effets sanitaires individuels des substances

Calcul des QD individuels

$$QD = \frac{DJE_i}{VTR_i}$$

Risques liés aux effets irritants du mélange

Calcul du QD pour le mélange

$$QD_{mélange} = \frac{C_m}{VTR_{Cl}}$$

DJE_i et VTR_i sont respectivement la dose journalière d'exposition et la VTR du constituant i ; C_m est la concentration normalisée du mélange et VTR_{Cl} est la VTR du composé de référence

Figure 1 : Évaluation des risques sanitaires pour des mélanges de substances irritantes rencontrées dans un environnement

Une analyse des limites et incertitudes a été réalisée et a porté sur le choix des substances constituant le mélange d'irritants et la sélection du modèle de construction de VGAI pour un mélange. Elle a relevé des inconnues en termes d'impact sur l'évaluation des effets irritants du mélange. Au global, les hypothèses retenues tendent majoritairement à surestimer le risque d'irritation sensorielle du mélange considéré.

3.2.4. Accompagnement métrologique des VGAI pour un mélange d'irritants

Des méthodes de mesure multi-composés et par famille chimique ou composés d'intérêt ont été identifiées afin de décrire et de discuter leur mise en œuvre pour la mesure des composés du mélange final d'irritants.

Concernant les méthodes de mesure multi-composés, trois méthodes de mesure dans l'air des lieux de travail et l'air intérieur ont été recensées auprès des sources reconnues proposées dans la méthodologie du GT « Métrologie », complétées par de la documentation de fabricants :

- Méthode n°1 : prélèvement par canister avec préconcentration et analyse par chromatographie gazeuse (GC/MS) ;
- Méthode n°2 : Prélèvement actif sur tube adsorbant multicouches, désorption thermique et analyse par chromatographie gazeuse (GC/MS) ;
- Méthode n°3 : analyseur par spectrométrie de masse à réaction de transfert de protons (spectrométrie de masse proton-transfert-réaction (PTR-MS)).

Ces méthodes visent la mesure de différents composés organiques volatils (COV). Les 2 premières ont déjà fait l'objet d'une évaluation selon la démarche mise en œuvre par le GT « Métrologie ». Cette démarche d'évaluation vise à recommander une ou plusieurs méthodes de référence permettant d'effectuer des mesures de concentration pour certaines substances du mélange d'irritants.

La méthode n°1 reposant sur un prélèvement par canister a été la seule méthode recommandée pour la mesure de l'acroléine. Cette méthode n'a pas été recommandée pour la mesure du toluène et de l'éthylbenzène en raison d'une insuffisance de données de validation pour ces composés.

La méthode n°2 concerne la mesure de composés organiques volatils (COV) sur tube multi-adsorbant par désorption thermique suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse avec détection par détecteur à ionisation de flamme ou spectrométrie de masse. Il s'agit d'une méthode de *screening* pour laquelle il existe peu de données de validation.

La méthode n°3 reposant sur la spectrométrie de masse à ionisation chimique par transfert de protons a été développée pour la mesure dans l'air ambiant. Il s'agit d'un instrument de mesure en continu et à lecture directe appelé PTR-MS. Les données de la littérature font état de limites sur l'identification des composés, sur les interférences et contraintes de réglages ainsi que sur un traitement de données pour correction de biais. Les données de validation de ces instruments de mesure en continu et à lecture directe déployés dans les environnements intérieurs restent à documenter à ce jour.

La recherche bibliographique a identifié des articles portant sur l'analyse simultanée de plusieurs COV et a permis de dresser une liste d'autres méthodes utilisées sur le terrain. Les études récentes portent sur les microcapteurs, appelés « systèmes capteurs ». Ce domaine technologique connaît une forte évolution depuis quelques années s'illustrant par une multiplication de systèmes capteurs disponibles sur le marché et un nombre croissant d'études et de projets sur le sujet. L'expertise de l'Anses dédiée à ces « systèmes capteurs » a montré que l'exactitude et la fiabilité des mesures des systèmes capteurs, bien que très variables selon les technologies et les polluants, restent inférieures à celles attendues dans les méthodes de référence. De plus, le manque de spécificité des systèmes capteurs pour les COV est un facteur limitant. Toutefois des améliorations sont en cours.

Concernant les méthodes de mesure par famille chimique, les méthodes classiquement mises en œuvre pour la mesure d'aldéhydes et d'hydrocarbures aromatiques ont été évaluées par le GT « Métrologie » dans des expertises VGAI antérieures de l'Anses (formaldéhyde (2018), toluène (2018), éthylbenzène (2016), acétaldéhyde (2014), acroléine (2013) et NO₂ (2013)).

La méthode reposant sur un support imprégné de 2,4-dinitrophénylhydrazine (2,4-DNPH) a été recommandée pour le formaldéhyde mais pas pour la mesure de l'acroléine. Des limites sont documentées dans la littérature ; elles concernent la dégradation des dérivés d'acroléine à la fois sur le support de prélèvement et dans la solution de désorption pour les méthodes de mesure reposant sur la réaction de l'acroléine avec la 2,4-DNPH. L'instabilité et la réactivité des dérivés formés sont aussi mentionnées pour le crotonaldéhyde car il s'agit d'un aldéhyde insaturé ; ces deux limites ne sont pas observées pour des aldéhydes saturés tels que le formaldéhyde ou l'acétaldéhyde.

Pour la mesure d'hydrocarbures aromatiques, les méthodes de mesure classiquement mises en œuvre reposent sur un prélèvement actif ou passif sur tube adsorbant, suivi d'une désorption par solvant ou désorption thermique et analyse par chromatographie gazeuse. Elles peuvent également servir à la mesure d'autres COV, par exemple, les familles de terpènes et d'éthers de glycol. Le choix de l'adsorbant ou de la combinaison d'adsorbants peut se faire au regard des composés recherchés. Les caractéristiques des principaux adsorbants utilisés pour la mesure dans l'air ambiant et leur adaptation en fonction des caractéristiques physico-chimiques des substances sont reprises à titre indicatif en Annexe 1.

Pour les composés inorganiques, les méthodes de mesure du dioxyde d'azote (NO₂) et de l'ozone (O₃) recensées sont spécifiques, et seules celles du NO₂ ont été évaluées par le GT « Métrologie » dans des travaux d'expertise antérieurs. Il s'agit, soit de méthodes d'analyse en continu mises en œuvre dans le cadre de la réglementation relative à la surveillance de l'air ambiant, soit de méthodes de mesure reposant sur un prélèvement actif ou passif sur un tube avec un réactif d'absorption suivi d'une analyse par spectrophotométrie ou chromatographie ionique.

Au-delà de la méthode, la caractérisation d'une exposition de courte durée nécessite de mettre en œuvre une stratégie d'échantillonnage aussi bien d'un point de vue spatial que temporel. L'identification des sources et/ou des situations à l'origine de pics d'exposition est primordiale en vue de protéger des effets irritants. Cet objectif ne peut pas être satisfait par des méthodes de mesure globales telles que les nez électroniques ou systèmes capteurs non spécifiques qui ne permettent pas d'identifier les différents composés du mélange d'irritants en air intérieur.

Le recours à des instruments de mesure en continu et à lecture directe serait intéressant. Au cours de ces dernières années, plusieurs dispositifs de ce type ont été développés et pour certains commercialisés afin de renseigner l'évolution des concentrations en air ambiant. La mise en œuvre de méthodes de mesure visant à caractériser des expositions de courte durée diffère des stratégies habituellement mises en place, notamment dans les campagnes de mesure réalisées dans le cadre de la réglementation française actuelle relative à la surveillance de la qualité de l'air intérieur dans certains établissements recevant du public (ERP). La majorité des niveaux de concentrations documentés dans la présente expertise repose sur des prélèvements réalisés sur plusieurs jours pouvant être répétés sur 2 périodes différentes de l'année.

Les systèmes capteurs ouvrent de nombreuses perspectives dans le domaine de la qualité de l'air, du fait de la miniaturisation et de l'acquisition de résultats de mesures en temps quasi réel. Toutefois, le manque de spécificité des technologies actuelles ne permet pas de les utiliser pour étudier des mélanges de COV.

3.2.5. Mise en perspective

L'objectif de cette mise en perspective est d'identifier les substances qui contribuent le plus à la concentration normalisée (en équivalent formaldéhyde) à partir des données de concentrations dans l'air intérieur suivantes :

- données « brutes » (concentrations de substances disponibles pour chaque échantillon) (Mandin *et al.*, 2009 ; Dassonville *et al.*, 2019, Mandin *et al.*, 2017 ; contribution extérieure laboratoire, 2021) ;
- données « traitées » (disponibilité des concentrations de substances sous la forme de moyenne, médiane, minimum, maximum, percentiles, *etc.* ; sans détail à l'échelle de l'échantillon) (Derbez *et al.*, 2016 ; Jurvelin *et al.*, 2003, Seraphin 2020).

Le Tableau 2 décrit les caractéristiques principales des différentes sources de données exploitées.

Tableau 2 : Informations générales sur les sources de données utilisées pour la mise en perspective

Type d'EI	Logements			Bureaux					Écoles
Source des données	Jurvelin <i>et al.</i> (2003)	Mandin <i>et al.</i> (2009)	Derbez <i>et al.</i> (2016)	Jurvelin <i>et al.</i> (2003)	Mandin <i>et al.</i> (2017)	Séraphin (2020)	Contribution extérieure laboratoire (2021)	Dassonville <i>et al.</i> (2019)	
Zone géographique	Finlande (Helsinki)	France	France	Finlande (Helsinki)	Europe	France (Nouvelle Aquitaine)	France	France	
Période	été-automne 1997	oct 2003 - déc 2005	2012 - 2015	été-automne 1997	été 2012	hiver 2012-2013	oct 2018 -juin 2019	2016 - 2021	juin 2013 - juin 2017
Nombre de données	n = 15 logements	n = 567 logements	n = 72 logements	n = 9 bureaux	n ≈ 140 bureaux (37 immeubles de bureaux)	n ≈ 100 bureaux (30 immeubles de bureaux)	n = 316 bureaux	n = 301 écoles	
Méthode de mesure	Prélèvements actifs	Prélèvements passifs		Prélèvements actifs	Prélèvements passifs	Prélèvements actifs	Prélèvements passifs	Prélèvements passifs	
Durée échantillonnage	48 h	1 semaine	1 semaine	48 h	5 jours	6 h	4,5 jours	5 jours	
Nature des données de concentrations disponibles	Données traitées	Données brutes	Données traitées	Données traitées	Données brutes	Données traitées	Données brutes	Données brutes	
Nombre de substances du mélange d'irritants investiguées	5	11	13	5	14	17	4	12	

A partir des concentrations dans l'air et des RPF calculés pour les substances du mélange d'irritants (cf. Tableau 1), les concentrations équivalentes toxiques en formaldéhyde de l'ensemble des substances mesurées, puis la concentration normalisée du mélange d'irritants (C_m) ont été calculées pour chaque échantillon (cf.

Équation 5). Pour chaque échantillon, la contribution de chaque substance du mélange d'irritants au calcul de la C_m a ensuite été évaluée en utilisant l'Erreur ! Source du renvoi introuvable..

$$\text{Contribution} = (C_i \times RPF_i) / C_m$$

« C_i » : concentration d'une substance i

« RPF_i » : facteur d'équivalence toxique de la substance i

« C_m » : concentration normalisée du mélange

Équation 6 : Contribution des substances du mélange au calcul de la C_m

La contribution à la Cm de chaque substance mesurée dans un échantillon donné a été calculée. Pour les substances concernées, l'analyse a ensuite porté sur la médiane et le percentile 99 (P99) de la contribution au calcul de la Cm. Dans l'analyse des contributions relatives des substances à la Cm, le P99 permet de prendre en compte des situations « extrêmes » (le pourcentage des concentrations les plus élevées).

Lorsque des données brutes n'étaient pas disponibles, une « contribution indicative moyenne » a, par défaut, été calculée à partir des données de concentrations moyennes des substances en mélange.

Les substances qui contribuent le plus au résultat de calcul de la Cm sont le formaldéhyde (53-99%), l'ozone (21-88%), puis l'acroléine (7-82%). Dans l'ensemble, les substances pour lesquelles le RPF est élevé contribuent régulièrement à plus de 5% au résultat de calcul de la Cm. Il est à noter que le toluène, qui est la substance avec le RPF le plus faible (RPF = 0 0009), peut contribuer à hauteur de 7% au calcul de la Cm.

La Figure 2 présente la répartition des substances selon leur contribution à la Cm calculée à partir du P99 de la contribution réelle et des contributions indicatives moyennes. Les contributeurs majoritaires (> 10%) sont de familles chimiques différentes et il n'est pas possible de déployer une seule méthode permettant de tous les mesurer. Le coût des mesures à effectuer augmente d'abord selon le nombre de prélèvements à mettre en œuvre et ensuite avec le nombre de substances à analyser dans chaque prélèvement.

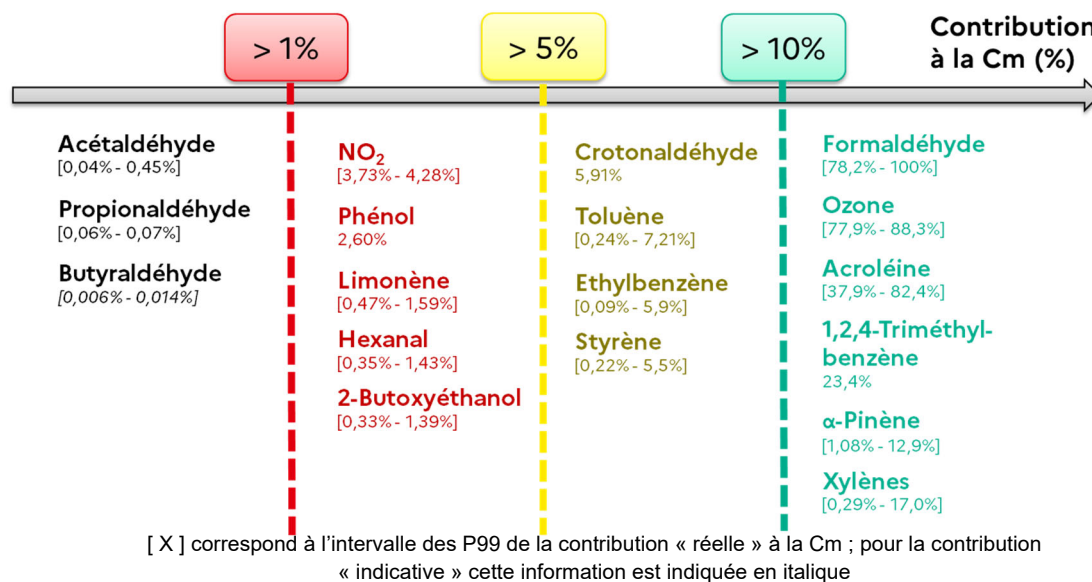


Figure 2 : Répartition des substances du mélange d'irritants selon leur contribution au calcul de la Cm

Plusieurs limites ont été identifiées :

- la représentativité des niveaux de concentrations mesurés : certaines données sont anciennes et, par conséquent, non représentatives des concentrations actuelles qui ont pu évoluer avec la réglementation. Selon les substances, la contribution à la Cm peut donc être sur- ou sous-estimée. À titre d'exemple, l'OQAI a évalué les tendances d'évolution temporelle des concentrations des substances mesurées à la fois dans la

campagne BPE et dans la CNL-1. Les résultats de la CNL-2 permettront d'apporter des précisions complémentaires ;

- l'adéquation des données mesurées avec les effets sanitaires considérés : les mesures sont majoritairement réalisées sur un pas de temps d'une semaine et correspondent à des concentrations moyennées sur la durée du prélèvement, alors que les effets considérés apparaissent pour des expositions aiguës. Cette mesure sur plusieurs jours pourrait sous-estimer les contributions de certaines substances au calcul de la Cm ;
- la disponibilité de données de concentrations : l'analyse de la contribution à la Cm est conditionnée par la disponibilité de données de mesures. Certaines substances telles que le formaldéhyde, l'acétaldéhyde ou le toluène sont fréquemment mesurées alors que d'autres telles que l'ozone ou le crotonaldéhyde le sont rarement. L'absence ou la disponibilité limitée de données peut conduire à une sous-estimation de la contribution à la Cm pour les substances concernées ;
- les difficultés de mesure pour certaines substances : à titre d'exemple, la méthode de mesure par diffusion sur un support imprégné de 2,4-DNPH sous-estime les niveaux de concentrations en acroléine et crotonaldéhyde.

3.2.6. Conclusions du CES AIR sur l'accompagnement métrologique et la mise en perspective

Le CES Air conclut que :

- en l'état actuel des connaissances, le mélange final d'irritants sensoriels constitué dans le cadre de ces travaux regroupe 18 substances fréquemment rencontrées dans l'air des environnements intérieurs ;
- les campagnes de mesure de l'air intérieur en France ont documenté de manière simultanée jusqu'à 17 de ces composés. La contribution des composés à la concentration normalisée du mélange⁵ (Cm) est majoritaire pour le formaldéhyde (52-99%), l'acroléine (7-82%) et l'ozone (21-88%) lorsque ce dernier est mesuré. Dans l'ensemble, les substances pour lesquelles le RPF est élevé (≥ 1) contribuent régulièrement à plus de 5% à la Cm. L'identification des sources et des situations à l'origine de pics d'exposition sont primordiales d'un point de vue sanitaire en vue de protéger des effets irritants ;
- les composés qui contribuent à plus de 10% à la Cm sont de familles chimiques différentes et leur mesure nécessite donc la mise en œuvre de différentes méthodes, en particulier, pour le formaldéhyde et d'autres aldéhydes saturés, ou l'acroléine et d'autres composés hydrocarbures ou terpènes, ou les composés inorganiques (NO₂ et O₃) ;
- la connaissance de la composition des mélanges d'irritants présents dans les environnements intérieurs est amenée à évoluer dans le temps, notamment avec l'évolution des méthodes de mesure.

⁵ Concentration équivalente toxique en formaldéhyde.

3.3. Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX)

3.3.1. Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances

Le rapport méthodologique a servi de base pour proposer une méthodologie générale d'élaboration de VTR pour des mélanges de substances ($VTR_{\text{mélange}}$). Un arbre décisionnel schématise la démarche séquentielle proposée (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

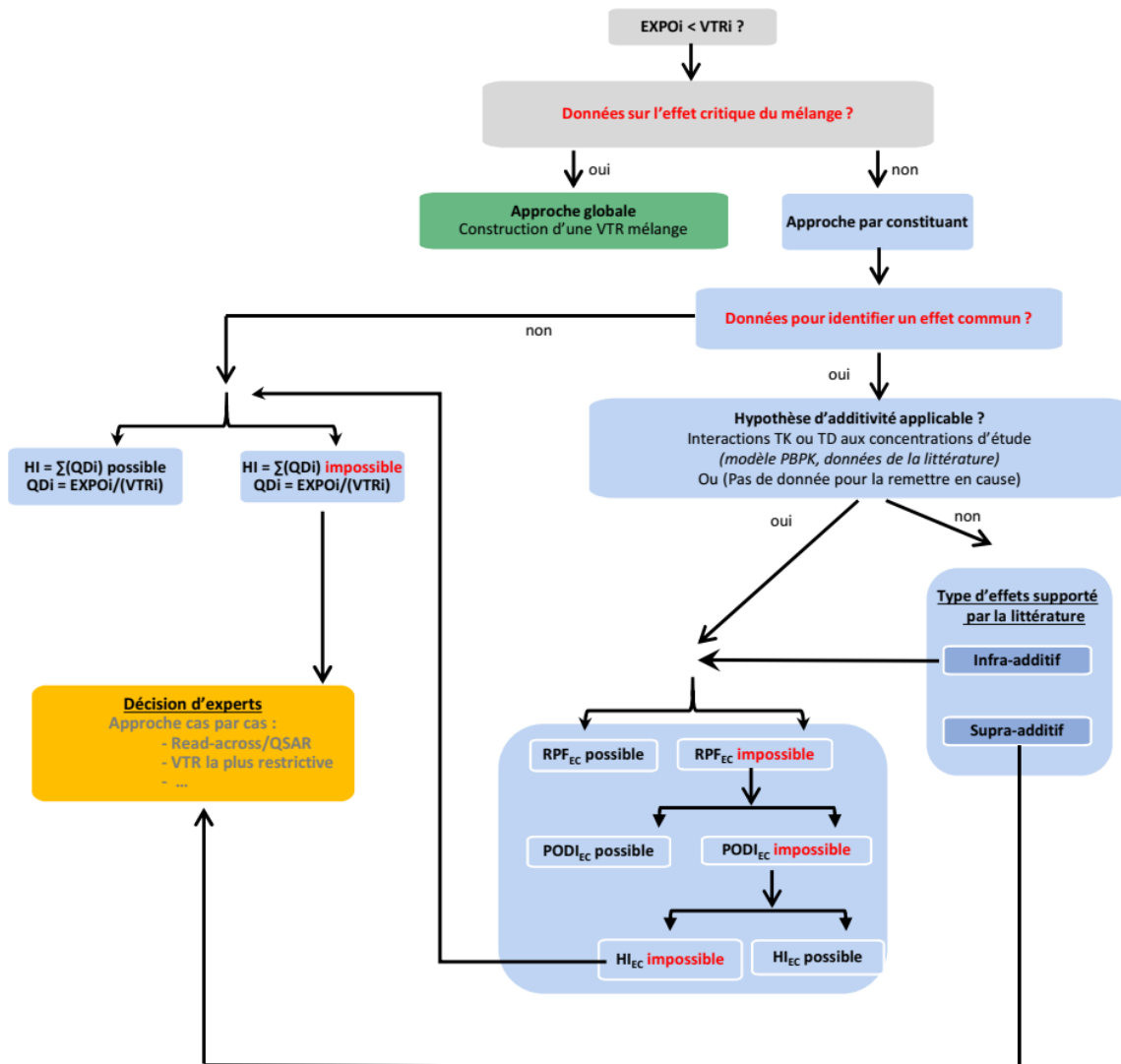


Figure 3 : Arbre décisionnel pour l'élaboration de VTR pour un mélange de substances

Deux approches sont proposées : l'approche globale du mélange et l'approche par constituant du mélange.

L'approche globale revient à considérer le mélange comme une entité chimique unique, similaire à une substance. Ainsi, tous les constituants du mélange contribuant au résultat de l'évaluation et leurs éventuelles interactions sont pris en compte. L'approche globale est généralement limitée à des évaluations portant sur une exposition directe au mélange, par une seule voie d'exposition (OCDE, 2018 ; EFSA, 2019). La recherche dans la littérature consiste alors en la collecte des données disponibles sur le mélange lui-même.

Contrairement à l'approche globale, l'approche par constituant ne permet pas d'établir une $VTR_{\text{mélange}}$ mais permet d'appliquer des modèles d'évaluation des risques cumulés résultant de l'exposition combinée aux substances présentes dans le mélange considéré (HI, PODI, RPF/TEF) (cf. §3.1). Sur la base des données collectées sur chaque constituant du mélange, il convient d'identifier tous les effets néfastes communs à l'ensemble des substances et de sélectionner l'effet critique commun aux constituants du mélange et survenant aux doses ou concentrations les plus faibles.

Si la revue de la littérature permet d'identifier des données toxicocinétiques (TK) et/ou toxicodynamiques (TD) aux concentrations considérées, il convient d'évaluer si ces données mettent en évidence une interaction différente de l'additivité (interactions négatives, antagonisme/effet infra-additif ou positives, synergie/effet supra-additif) ou au contraire si elles permettent d'étayer un effet additif des différents constituants. Si l'hypothèse d'additivité est applicable, en fonction des données disponibles pour l'effet commun considéré, les modèles suivants sont préconisés par ordre de préférence :

- facteur de puissance relative pour l'effet commun considéré (RPF_{EC}),
- *Point of Departure Index* pour l'effet commun considéré ($PoDI_{EC}$),
- *Hazard Index* pour l'effet commun considéré (HI_{EC}) avec élaboration de valeurs toxicologiques fondées sur l'effet commun considéré pour les différents constituants du mélange (VTM_{EC}).

Si les données disponibles ne permettent pas de mettre en œuvre les 3 modèles précités, alors le modèle HI est mis en œuvre dès lors qu'on dispose de VTR pour chacun des constituants du mélange. Enfin, une approche au cas par cas, fondée sur une décision d'experts, est envisagée en l'absence de VTR ou si les données permettent de suspecter une interaction synergique ou mettent en évidence un effet supra-additif du mélange.

3.3.2.Élaboration d'une valeur toxicologique pour le mélange BTEX

Concernant le mélange BTEX, la collecte des informations nécessaires à la réalisation de cette expertise a été effectuée sur la base des rapports existants au niveau international sur le mélange BTEX (ATDSR, 2004) complété par une recherche bibliographique sur les bases de données Pubmed et Scopus entre 2004 et 2021. Concernant les différents constituants du mélange BTEX, la collecte des informations a été réalisée sur la base des rapports existants publiés par l'Anses (Anses, 2014, 2016b, 2017, 2020), des rapports institutionnels complétés par une recherche bibliographique jusqu'en septembre 2021 sur Pubmed et Scopus pour le toluène et l'éthylbenzène.

Au regard du manque de données sur le mélange BTEX appropriées à l'élaboration d'une VTR_{BTEX} , une approche globale n'a pas pu être mise en œuvre. Une approche par constituant a donc été suivie, en retenant la neurotoxicité comme effet commun. Pour une exposition chronique par inhalation, sur la base des données humaines et animales disponibles, le système nerveux central (SNC) s'avère le principal organe cible commun des BTEX. Sur la base de modélisation PBPK et de données toxicologiques, l'hypothèse d'additivité n'a pas été remise en cause. Au regard des données disponibles, des facteurs de puissance relative (RPF) ou des PoDI n'ont pas pu être établis pour les effets neurotoxiques. Le modèle $HI_{\text{neurotoxicité}}$ a été sélectionné. Des valeurs toxicologiques dédiées à la neurotoxicité ont été élaborées pour les constituants du mélange BTEX ($VTR_{\text{neurotoxicité}}$).

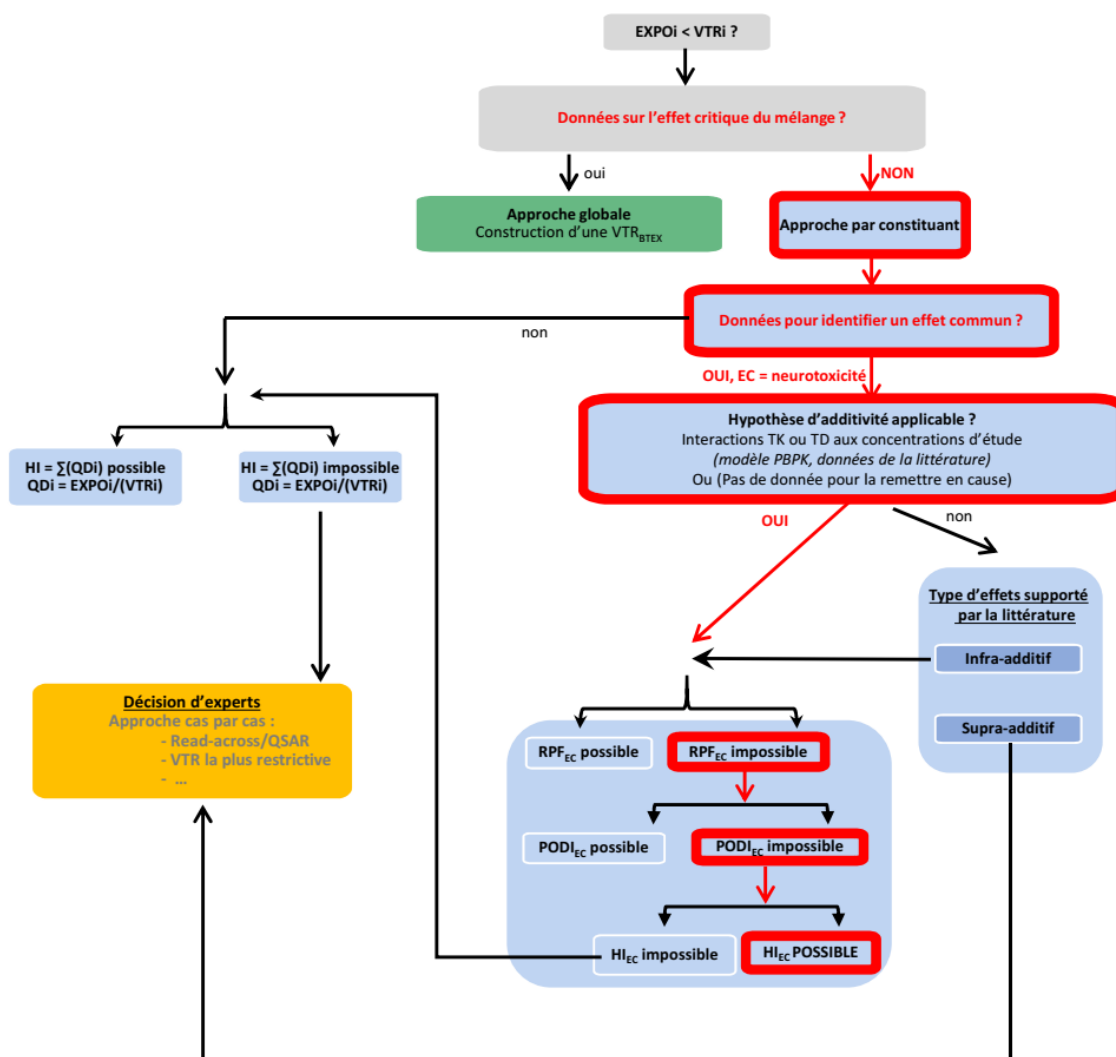


Figure 4 : Arbre décisionnel appliqué au mélange BTEX

• **Élaboration d'une VTM pour la neurotoxicité**

Pour une exposition chronique par inhalation, la neurotoxicité est l'effet commun le plus manifeste. Cependant, si les troubles de la coordination (effet critique de la VTR xylènes) et de la vision (effet critique de la VTR toluène) sont des proxys de l'atteinte du SNC par les solvants organiques dont les BTEX, l'ototoxicité (effet critique de la VTR éthylbenzène) n'est en revanche pas commune à tous les BTEX dépendant d'un mode d'action en lien avec leur encombrement stérique. Les VTR du toluène et des xylènes étant toutes les deux fondées sur la neurotoxicité, elles peuvent être utilisées pour évaluer les risques du mélange BTEX pour cet effet commun. Elles sont ainsi égales aux valeurs toxicologiques pour l'effet neurotoxique commun ($VTM_{neurotoxicité}$). Des $VTM_{neurotoxicité}$ ont donc été élaborées pour les 2 autres constituants du mélange dont la VTR n'est pas fondée sur un effet neurotoxique (benzène et éthylbenzène).

En l'absence d'études par inhalation suffisamment robustes, les données de toxicité subchronique et chronique par voie orale disponibles pouvant indiquer des effets neurotoxiques ont été considérées afin de construire, après une transposition voie à voie, une

VTM_{neurotoxicité} chronique par inhalation. Les VTM_{neurotoxicité} sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : VTM_{neurotoxicité} par voie respiratoire

Constituants du mélange	Organisme	Effet critique (étude clé)	PoD	UF	VTM _{neurotoxicité}
Benzène en mélange	Anses (2022)	Effets neurologiques (diminution de la coordination et de l'activité motrice) Rafati <i>et al.</i> , 2015 : étude de 28 jours chez le rat par gavage	LOAEL _{neurotoxicité} = 200 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique:</u> LOAEL _{HED-neurotoxicité} = 46,2 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ VTM _{neurotoxicité} orale = 18,5 µg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Transposition voie à voie</u> VTM _{neurotoxicité-respiratoire} = VTM _{neurotoxicité-orale} x 70kg/20m ³ .j ⁻¹	2500 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 10 UF _{B/L} = 10 UF _D = 1	VTM_{neurotoxicité} = 0,065 mg.m⁻³ (0,02 ppm)
Toluène	Anses (2017)	Effets neurologiques (troubles de la vision des couleurs) Zavalic <i>et al.</i> , 1998 : étude épidémiologique chez des travailleurs	NOAEC = 123 mg.m ⁻³ (32 ppm) <u>Ajustement temporel</u> (utilisation d'un modèle PBPK ; équivalence de dose ajustée sur la vie entière) : NOAEC _{ADJ} = 96 mg.m ⁻³ (25 ppm)	5 UF _H = 5	VTM_{neurotoxicité} = VTR = 19 mg.m⁻³ (5 ppm)
Éthylbenzène en mélange	Anses (2022)	Effets neurologiques (test de motricité) Li <i>et al.</i> , 2010 : étude de 90 jours chez le rats par gavage	NOAEL _{neurotoxicité} = 500 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED-neurotoxicité} = 500 x (0,339/70) ^{0,25} = 131 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ = 131 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ VTM _{neurotoxicité} orale = 1,74 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Transposition voie à voie</u> VTM _{neurotoxicité-respiratoire} = VTM _{neurotoxicité-orale} x 70kg/20m ³ .j ⁻¹	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTM_{neurotoxicité} = 6 mg.m⁻³ (1,4 ppm)
Xylènes	US EPA (2003)	Effets neurologiques (altération de la coordination motrice - test du rotarod) Korsak <i>et al.</i> , 1994 : étude de 90 jours chez le rat par inhalation corps entier, 6h/j, 5j/sem	NOAEC = 217 mg.m ⁻³ (50 ppm) <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 38,75 mg.m ⁻³ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = 38,75 mg.m ⁻³	300 UF _{A-TD} = 3 UF _H = 10 UF _S = 3 UF _D = 3	VTM_{neurotoxicité} = VTR = 0,1 mg.m⁻³ (0,03 ppm)

Les valeurs à appliquer pour évaluer les risques pour les constituants du mélange BTEX couvrent une large gamme de concentrations. Celle-ci ne traduit pas nécessairement une différence de puissance relative entre les différents constituants pour les effets neurotoxiques mais résulte de la disparité des données disponibles et de la méthodologie d'élaboration de VTR. En effet, la valeur la plus élevée est celle du toluène car celle-ci est établie sur la base d'un corpus de données chez l'Homme conséquent : facteur d'incertitude global de 5 et niveau de confiance fort. A l'inverse pour le benzène, la VTM_{neurotoxicité} est fondée sur une seule étude de 28 jours par voie orale chez le rat avec une seule dose testée : facteur d'incertitude de 2500. Pour une approche plus robuste, la génération de données permettant d'établir des PoD ou des RPF pour la neurotoxicité semble nécessaire, le toluène pouvant servir de composé de référence du mélange.

3.4. Recommandations du CES VSR

Le CES VSR émet plusieurs recommandations :

- l'élaboration de VTM ou de RPF est à envisager pour les mélanges fréquemment rencontrés dans l'environnement (atmosphère de travail, eau, air intérieur, air ambiant, etc.) mais pas de manière systématique. Elle est réalisable si toutes les substances du mélange partagent un effet sanitaire commun. Le HI spécifique sur l'effet commun est à utiliser lorsque le HI générique est égal ou supérieur à 1 ;
- les approches méthodologiques proposées mériteraient d'être complétées par des approches expérimentales afin de tester leur validité ;
- pour les irritants, l'élaboration d'une base de données accessible à tous et régulièrement mise à jour qui recenserait les RD50 disponibles pour les substances fréquemment rencontrées dans l'environnement est recommandée.

3.5. Recommandations du CES Air

Le CES Air alerte sur le fait que les données de concentration actuellement disponibles ne permettent pas de caractériser les pics ni d'identifier les sources d'exposition au mélange d'irritants. Dans le but de caractériser le risque d'irritation lié à l'exposition à ce mélange, il est nécessaire de définir et de mettre en œuvre une stratégie d'échantillonnage qui permette d'identifier les pics d'exposition et de documenter les variations spatio-temporelles des concentrations des composés de ce mélange et leurs déterminants dans les espaces clos.

En termes de recherche et développement, le CES Air recommande :

- de poursuivre le développement et la validation des instruments pour mesurer en continu et de manière spécifique les différents composés du mélange d'irritants. Ces dispositifs de mesure sont particulièrement intéressants pour aider à l'identification des sources. Le développement et la validation de systèmes capteurs sensibles et spécifiques pour la mesure des composés du mélange, seuls ou de manière simultanée serait utile dans ce cadre.

En termes d'évaluation des risques, le CES Air recommande :

- d'utiliser la démarche « VGAI pour un mélange d'irritants » et la liste de substances irritantes associée dans le cadre d'investigations pour plaintes en lien avec des symptômes irritatifs, en complément des démarches habituellement mises en œuvre ;
- de réaliser une veille sur les effets irritants des substances fréquemment rencontrées dans les environnements intérieurs dans le but d'actualiser la liste des composés.

Enfin, le CES Air souligne l'intérêt de prendre en compte les substances irritantes du mélange lors de la réalisation de campagnes de mesure de la qualité de l'air intérieur.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Si la prise en compte de l'exposition réelle de la population reste complexe, la question de l'exposition à des mélanges de substances chimiques au quotidien, que ce soit dans la sphère

privée ou dans le cadre d'activités professionnelles, fait déjà l'objet de travaux de recherche ou d'expertise à l'Agence. Le présent avis s'inscrit dans les missions pérennes d'expertise de l'Anses concernant l'élaboration de valeurs de référence, lesquelles visent à protéger la santé des populations.

L'Agence endosse des conclusions et recommandations présentées ci-dessus et en souligne l'importance. Ces travaux d'expertise fournissent des outils opérationnels afin d'évaluer les risques liés à l'exposition à des mélanges de substances, et plus précisément les risques d'irritation sensorielle d'un mélange de substances (aldéhydes, hydrocarbures aromatiques, phénols, éthers de glycol, composés inorganiques, terpènes) fréquemment retrouvées dans les environnements intérieurs et les risques d'effets neurologiques d'un mélange de 4 hydrocarbures aromatiques. L'Anses souligne que la vérification du respect de la valeur pour le mélange doit toujours être associée à celle du respect des VTR ou VGAI de chacun des composants du mélange, la valeur pour le mélange n'étant pas toujours fondée sur l'effet critique de la substance mais sur un effet sanitaire commun identifié pour l'ensemble des composants du mélange.

En complément, les enseignements issus de ces travaux ont vocation à alimenter les réflexions méthodologiques menées à l'Anses sur la thématique des mélanges, notamment dans le cadre de la révision du guide pour l'élaboration et le choix de valeurs de référence. Ils s'inscrivent également dans des travaux méthodologiques plus larges de l'Agence sur les différentes composantes de l'exposome⁶ dans la perspective d'intégrer progressivement dans les expertises la prise en compte des expositions multi-sources, multi-voies et multi-substances.

Enfin, dans le cadre du partenariat européen pour l'évaluation des risques liés aux substances chimiques (PARC), l'Agence souligne l'opportunité d'initier des projets de recherches innovants afin d'améliorer la production de connaissances sur les mélanges de substances et de proposer de nouvelles méthodes et outils pour l'évaluation des risques des substances chimiques dans le but de protéger la santé.

Dr Roger Genet

⁶ L'Anses propose la définition de l'exposome suivante : « L'exposome correspond à la totalité des expositions néfastes comme bénéfiques à des agents chimiques, biologiques, et physiques, en interaction avec le milieu de vie et le contexte psycho-social, que connaît un organisme vivant de sa conception à sa fin de vie, complétant l'effet du génome afin d'expliquer son état de santé ».

MOTS-CLÉS

Mélange, risque cumulé, méthodes, valeur guide, VGAI, VTR, valeur toxicologique de référence, indoor, irritants, aldéhydes, hydrocarbures aromatiques, terpènes, composés inorganiques, BTEX, formaldéhyde, acroléine, ozone, benzène

Mixture, cumulative risk, methods, guideline value, IAQG, TRV, toxicological reference value, indoor, irritative compounds, aldehydes, aromatic hydrocarbons, terpenes, inorganic compounds, BTEX, formaldehyde, acrolein, ozone, benzene

BIBLIOGRAPHIE

- Anses. (2014). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Valeur toxicologique de référence par voie respiratoire pour le benzène. Maisons-Alfort, 106 p.
- Anses (2016a) Proposition de valeurs guides de qualité d'air intérieur. Méthode d'élaboration de valeurs guides de qualité d'air intérieur. Avis de l'Anses et rapport d'expertise collective. Seconde édition - mise à jour en 2016. Maisons-Alfort, 90 p.
- Anses. (2016b). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Élaboration de VTR aiguë et chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène. Maisons-Alfort, 118 p.
- Anses. (2017). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Elaboration de VTR aiguë et chronique par voie respiratoire pour le toluène (CAS n°108-88-3). Anses, Maisons-Alfort, 62 p.
- Anses. (2018). Mise à jour de valeurs guides de qualité d'air intérieur – Le formaldéhyde. Février 2018 ; Edition scientifique. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort. 214 p.
- Anses. (2020). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Les xylènes. Maisons-Alfort, 130 p.
- ATSDR. (2004). Interaction Profile for Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes (BTEX). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Public Health Service, Atlanta, GA, pp. 1–154. <https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ip-btex/ip05.pdf>
- ATSDR. (2007). Toxicological profile for xylene. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. August 2007. Atlanta, Georgie. 496 p <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>
- Dassonville C., *et al.* (2019) Indoor air quality in French schools: results from a nationwide survey. Rapport. 18p.
- Derbez M., *et al.* (2016). Base de référence nationale sur la qualité de l'air intérieur et le confort des occupants de bâtiments performants en énergie – Deuxième état descriptif de la qualité de l'air intérieur et du confort de bâtiments d'habitation performants en énergie, CSTB-OQAI/2016-010, Février 2016, 100 p.
- EFSA. (2013). Scientific Opinion on the identification of pesticides to be included in cumulative assessment groups on the basis of their toxicological profile. EFSA Journal 11 (7):3293.

- EFSA. (2019). Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. EFSA Journal 2019;17(3):5634.
- INRS (2018) FICHE TOXICOLOGIQUE FT 0 À propos des fiches toxicologiques. Disponible en ligne : <https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox.html> . 26 p.
- Jurvelin JA., *et al.* (2003). Residential indoor, outdoor, and workplace concentrations of carbonyl compounds: relationships with personal exposure concentrations and correlation with sources. J Air Waste Manag Assoc. 2003 May;53(5):560-73.
- Kortenkamp A., Backhaus T., Faust M. (2009). State of the art report on mixture toxicity. European Commission. 391 p.
- Mandin C., *et al.* (2009) Campagne nationale « Logements » de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur : de la description de la pollution intérieure à sa compréhension. Pollution atmosphérique N° 204 - Octobre-décembre 2009.
- Mandin C., *et al.* (2017). Assessment of indoor air quality in office buildings across Europe - The OFFICAIR study. Sci Total Environ. 2017 Feb 1;579:169-178.
- OCDE. (2018). Guidance document on inhalation toxicity studies Series on Testing and Assessment No. 39 (Second Edition). 106 p.
- SCHER, SCENIHR, SCCS. (2011). Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. Brussels: Scientific Committee on Health and Environmental Risks, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, Scientific Committee on Consumer Safety.
- Séraphin G. (2020). Stratégies optimales de maîtrise de la qualité de l'air dans les bureaux : évaluation du potentiel des matériaux adsorbants. Manuscrit de thèse - discipline : énergétique et thermique. Université de La Rochelle. 206p.
- US EPA. (2003). Toxicological review of xylenes. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). Washington D.C., USA. 113 p.
- US EPA. (2008) Concepts, Methods, and Data Sources For Cumulative Health Risk Assessment of Multiple Chemicals, Exposures and Effects: A Resource Document (Final Report, 2008). US Environmental Protection Agency, Washington. 412p. https://cfpub.epa.gov/si/si_public_file_download.cfm?p_download_id=474337&Lab=NCEA

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2022). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'élaboration de valeurs de référence pour des mélanges de substances : état des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges, application aux valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAi) et aux valeurs toxicologiques de référence (VTR). (saisine 2018-SA-0152). Maisons-Alfort : Anses, 26 p.

ANNEXE 1 : TABLEAU : DESCRIPTION DES PRINCIPAUX ADSORBANTS UTILISÉS POUR LA MESURE DANS L'AIR DES SUBSTANCES DU MÉLANGE D'IRRITANTS

Adsorbant	Composition	Pouvoir adsorbant	Température de désorption	Exemples de composés			
Tenax TA	Poly(2,6-diphényl-p-phénylene oxyde)	Faible	350°C	Hydrocarbures aromatiques sauf benzène, composés non polaires (Teb >100°C) et composés polaires peu volatils (Teb >150 °C) n-C ₇ -nC ₂₆ : Teb 100-400°C			
Tenax GR	Poly(2,6-diphényl-p-phénylene oxyde) + 23% charbon graphitisé	Faible	350°C	Mêmes composés que le Tenax TA + Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB) et alkylbenzène n-C ₇ -nC ₃₀ : Teb 100-450°C			
Chromosorb 106	Styrène-divinylbenzène copolymère	Moyen	225-250°C	Grande variété de COV dont composés volatils oxygénés n-C ₅ -nC ₁₂ : Teb 50-200°C			
Chromosorb 102	Polystyrène	Moyen	250°C	Mêmes composés que pour le Chromosorb 106 + hydrocarbures halogénés (moins volatils que le chlorure de méthyle) Teb 50-200°C			
Porapak N	Polyvinylpyrrolidone	Moyen	180-190°C	Spécifique aux composés volatils nitriliques, pyridine et alcools volatils et méthyl éthyl cétone (MEK)- acétylène et hydrocarbures aliphatiques n-C ₅ -nC ₈ : Teb 50-150°C			
Porapak Q	Ethylvinylbenzène-divinylbenzène copolymère	Moyen	250°C	Grande variété de COV, dont composés oxygénés n-C ₅ -nC ₁₂ : Teb 50-200°C			
Carbotrap C Carbopack C	noirs de carbone graphitisés (surface variable)	Très faible	>400°C	Hydrocarbures et alkylbenzènes – Cétones, alcools et aldéhydes n-C ₈ -nC ₂₀			
Carbograph 2 TD				Moyen-faible	Grande variété de COV dont cétones, alcools, aldéhydes, composés polaires volatils, perfluorés n-C _{5/6} -nC ₁₄		
Carbotrap Carbopack B							
Carbograph 1 TD							
Carbopack X				Moyen	hydrocarbures dont BTEX n-C _{5/6} -nC ₈		
Carbograph 5 TD				Moyen	hydrocarbures dont BTEX n-C ₅ -nC ₈		
Spherocarb, Unicarb				Produit de pyrolyse de polymères organiques	Fort	350-400 °C	Composés très volatils et polaires n-C ₃ -nC ₈ : Teb (-60)-80°C
Carbosieve SIII					Très fort		Composés très volatils n-C ₂ -nC ₅ : Teb (-30)-150°C
Carboxen 1000	Très fort	Hydrocarbures très volatils C ₂ -C ₃					
Molecular Sieve 5A	Très fort	Protoxyde d'azote					
Molecular Sieve 13X	Très fort	1,3-butadiène					
Charbon actif		Très fort	400°C Rarement utilisé en thermodésorption, à utiliser avec précaution	Composés très volatils n-C ₂ -nC ₄ : Teb (-80)-50°C			

Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX)

**Saisine « n° 2018-SA-0152 »
Saisine liée « n° 2016-SA-0101 »**

**RAPPORT
d'expertise collective**

**Comité d'experts spécialisé
« Valeurs sanitaires de référence »**

Mars 2022

Citation suggérée

Anses. (2022). Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX). (saisine 2018-SA-0152). Maisons-Alfort : Anses, 63 p.

Mots clés

VTR, valeur toxicologique de référence, mélange, BTEX, benzène, toluène, éthylbenzène, xylènes

Key words

TRV, toxicological reference value, mixture, BTEX, benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes

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.

GROUPE DE TRAVAIL « BTEX » (GT BTEX) (2020-2021)

Président

M. Jérôme THIREAU – PhD, Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Physiologie animale, électrophysiologie, biologie cellulaire, cardiotoxicité

Membres

M. Sylvain BILLET – Maître de conférences – Université du littoral Côte d'Opale – Compétences : Toxicologie.

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

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Centre antipoison de Paris - Compétences : Toxicologie médicale, médecine du travail.

Mme Sakina MHAOUTY-KODJA – Directeur de recherche – CNRS – Compétences: Neuro-endocrinologie, comportement, système nerveux central, reproduction, perturbation endocrinienne (Démission à partir de janvier 2022).

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ « VALEURS SANITAIRES DE RÉFÉRENCE » (CES VSR) (2021-2023)

Président

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue au Service de prévention et santé au travail de Corrèze et de Dordogne (SPST 19-24) – Compétences : Médecine du travail, toxicologie

Vice-président

Mme Anne MAITRE – Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH) au Laboratoire de Toxicologie Professionnelle et Environnementale, CHU de Grenoble ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations », Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

Membres

M. Luc BELZUNCES – Directeur de Recherche et Directeur du Laboratoire de Toxicologie Environnementale à l'INRAE – Compétences : Toxicologie générale, Neurotoxicologie, Écotoxicologie, chimie analytique, évaluation des risques

Mme Michèle BISSON – Toxicologue Responsable d'étude à l'INERIS – Compétences : Pharmacien toxicologue, VTR, évaluation des risques sanitaires

Mme Céline BOTINEAU - Ingénieur de prévention du risque chimique au CEA –
Compétences : Hygiène industrielle, chimie, évaluation des risques

Mme Anne CHEVALIER – Retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire - Compétences :
épidémiologie

M. François CLINARD - Épidémiologiste à l'Agence Santé Publique France – Compétences :
Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Programme des Monographies. Evidence
Synthesis and Classification Branch. Centre International de Recherche sur le Cancer -
Compétences : biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

M. Claude EMOND – Professeur associé - École de santé publique, Université de Montréal -
Département de santé environnementale et santé au travail. – Compétences : Toxicologie,
modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Paris - Compétences : Toxicologie médicale,
santé au travail, santé environnementale

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences :
médecine du travail, toxicologie professionnelle et environnementale

M. Kevin HOGEVEEN – Toxicologue, Anses – Fougères, Toxicologie des Contaminants –
Compétences : Toxicologie, génotoxicité, hépatotoxicité, toxicologie *in vitro*

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France –
Compétences : épidémiologie des risques professionnels

M. Frédéric LIRUSSI – Professeur des Universités– Praticien Hospitalier (PU-PH) à l'UFR des
Sciences de Santé & CHRU de Besançon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie
analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

M. Luc MULTIGNER – Directeur de recherche, INSERM U1085 - IRSET – Compétences :
Épidémiologie, Perturbateurs Endocriniens, Pathologies des fonctions et des organes de la
reproduction

Mme Nadia NIKOLOVA-PAVAGEAU – Conseiller médical à l'INRS – Compétences :
Médecine du travail, toxicologie médicale, IBE

M. Benoît OURY – Responsable d'études à l'INRS – Compétences : Métrologie
atmosphérique, Air des lieux de travail, évaluation expositions professionnelles

M. Henri SCHROEDER – Maître de Conférence à la Faculté des Sciences et Technologies de
l'Université de Lorraine –Département Neurosciences et Biologie Animale et unité INSERM
U1256 Nutrition, Génétique et Exposition aux Risques environnementaux - Pharmacien
neurobiologiste - Compétences : Neurotoxicité, polluants Environnementaux, comportement
animal, développement cérébral, exposition périnatale

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

M. Jérôme THIREAU – PhD, Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Physiologie
animale, électrophysiologie, biologie cellulaire, cardiotoxicité

Mme Maeva WENDREMAIRE – Maître de conférences à l'Université de Bourgogne –
Compétences : Toxicologie, reprotoxicité, pharmacologie, toxicologie analytique

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

Karine ANGELI – Cheffe de projet scientifique – Anses

François POUZAUD – Chef de projet scientifique – Anses

Contribution scientifique

Emmanuelle DURAND – Cheffe de projet scientifique – Anses

Secrétariat administratif

Patricia RAHYR – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux	10
Liste des figures	11
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	12
1.1 Contexte	12
1.2 Objet de la saisine	12
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	13
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts	13
2 Description de la stratégie d'élaboration de VTR pour les mélanges de substances	15
2.1 État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges - Réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence	15
2.2 Formulation de la problématique « VTR _{mélange} »	16
2.2.1 Description/caractéristique du mélange à considérer	16
2.2.2 Cadrage de la problématique.....	16
2.3 Sélection d'un modèle d'élaboration de « VTR _{mélange} » pour un mélange.....	16
2.3.1 Stratégie de recherche bibliographique	17
2.3.2 Approche globale	17
2.3.3 Approche par constituant du mélange	18
2.4 Proposition d'arbre décisionnel pour la construction d'une « VTR _{mélange} »	23
3 Application au mélange BTEX	25
3.1 Formulation de la problématique VTR _{BTEX}	25
3.1.1 Description/caractérisation du mélange BTEX	25
3.1.2 Cadrage de la problématique.....	25
3.2 Sélection d'un modèle d'élaboration d'une « VTR _{BTEX} »	26
3.2.1 Stratégie recherche bibliographique	26
3.2.2 Approche globale	26
3.2.3 Approche par constituants du mélange BTEX	27
3.3 Conclusion pour le mélange BTEX.....	48
4 Conclusions	49
5 Bibliographie	51
Annexe 1 : Lettre de saisine	56
Annexe 2 : Présentation des positions divergentes et abstentions	58
Annexe 3 : Recherche bibliographique BTEX à partir de 2004	59

Annexe 4 : Recherche bibliographique complémentaire pour l'éthylbenzène sur la période [2017-2021]..... 60

Annexe 5 : Recherche bibliographique complémentaire pour le toluène sur la période [2018-2021]..... 61

Annexe 6 : Recherche bibliographique complémentaire pour le benzène sur la période [2012-2020]..... 62

Sigles et abréviations

AchE	: Acétylcholinestérase
AhR	: Aryl hydrocarbon Receptor
AOP	: Adverse Outcome Pathway ou voie de signalisation toxicologique menant à des effets délétères
ARS	: Agence régionale de santé
ATSDR	: Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMDL/BMCL	: Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose/concentration
BTEX	: Benzène, toluène, éthylbenzène, xylènes
BTX	: Benzène, toluène, xylènes
CES	: Comité d'experts spécialisé
COV	: Composés organiques volatils
DGPR	: Direction générale de la prévention des risques
DGS	: Direction générale de la santé.
EFSA	: Autorité européenne de sécurité des aliments
GT	: Groupe de travail
HAP	: Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HED	: Human Equivalent Dose
HI	: Hazard Index
IPCS	: International Programme on Chemical Safety (Programme international sur la sécurité chimique)
LOAEL/C	: Lowest Observed Adverse Effect Level/Concentration (= Dose/Concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)
MRL	: Minimum Risk Level
NOAEL/C	: No Observed Adverse Effect Level/Concentration (= Dose/concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NRC	: National Research Council
OCDE	: Organisation de Coopération et de Développement Economiques
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
OR	: Odds Ratio
PACA	: Provence Alpes Côte d'Azur
PBDE	: Polybromodiphényléthers
PBPK	: Physiologically-Based Pharmacokinetic
PCB	: Polychlorobiphényles
PCDD	: Polychlorodibenzodioxines
PCDF	: Polychlorodibenzofuranes
PFC	: Composés perfluorés
PoD	: Point of Departure
PoDI	: Point of Departure Index
QD	: Quotient de danger
QSAR	: Quantitative Structure Activity Relationship
RPF	: Relative potency factor (Facteur de puissance relative)
RR	: Risque Relatif
SCHER	: Scientific Committee on Health and Environmental Risks
SNC	: Système nerveux central
TEF	: Toxic Equivalency factors
TEQ	: Toxicity equivalency quantity (Quantité équivalente toxique)
TPHCWG	: Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group
UF _A	: Facteur d'incertitude inter-espèces
UF _{A-TD}	: Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude inter-espèces

UF _{A-TK}	:	Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude inter-espèces
UF _D	:	Facteur d'incertitude au manque de données
UF _H	:	Facteur d'incertitude interindividuel
UF _{L/B}	:	Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD
UF _s	:	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
US EPA	:	U.S. Environmental Protection Agency
VGAI	:	Valeur Guide de l'air intérieur
VTR	:	Valeur toxicologique de référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : VTR chroniques établies ou retenues par l'Anses	28
Tableau 2 : VTR chronique par inhalation du toluène et des xylènes	33
Tableau 3 : VTM _{neurotoxicité} par voie orale et respiratoire pour le benzène	45
Tableau 4 : VTM _{neurotoxicité} par voie orale et respiratoire pour l'éthylbenzène	46
Tableau 5 : VTM _{neurotoxicité}	49

Liste des figures

Figure 1 : Arbre décisionnel pour l'évaluation des risques liés au mélange.....	24
Figure 2 : Exemple de profil de simulation à forte concentration pour le toluène.....	30
Figure 3 : Profil cinétique continue du benzène (a), du toluène (b), de l'éthylbenzène (c) et du m-xylène (d) en exposition unique (CVx :NC) et en mélange (CVx;C)	31
Figure 4 : Profils cinétiques d'exposition continue par inhalation aux doses suivantes correspondant à la $VTM_{neurotoxique}$, pour le benzène 0,02 ppm (a), le toluène 5 ppm (b), l'éthylbenzène 1,4 ppm (c) et le m-xylène 0,03 ppm (d), en exposition simple (en absence d'interaction métabolique, NC) et en mélange en présence d'un potentiel d'interaction (C) compétitif entre eux.	47
Figure 5 : Arbre décisionnel appliqué au mélange BTEX.....	48

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

L'Agence régionale de santé (ARS) Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA) a interpellé la Direction Générale de la Santé (DGS) au sujet d'une situation particulière concernant l'exposition à un mélange gazeux de benzène, toluène, xylènes (BTX), au sein d'un groupe scolaire situé à Marseille, à proximité d'un ancien site industriel. Cet établissement a fait l'objet d'un diagnostic environnemental dans le cadre de la démarche nationale d'identification des établissements accueillant les enfants et les adolescents construits sur des sites potentiellement pollués.

Bien que les concentrations mesurées pour les polluants pris individuellement soient toutes inférieures aux Valeurs Guides de l'Air Intérieur (VGI) et/ou aux valeurs toxicologiques de référence (VTR), l'ARS PACA s'est interrogée sur un éventuel effet cumulé de ces cinq substances chimiques (benzène, toluène et les 3 isomères du xylène), auxquelles est notamment exposée une population sensible (enfants) et sur la manière d'appréhender les très faibles doses.

Dans le cadre de la gestion sanitaire des sites et sols pollués, les services de l'État et les ARS sont régulièrement confrontés à la problématique de l'évaluation des risques pour la santé des populations simultanément exposées à plusieurs polluants.

La question d'un potentiel effet cumulé des substances chimiques identifiées est, par ailleurs, fréquemment soulevée par les riverains, les associations ou encore les élus, dans des situations analogues de sites et sols pollués.

1.2 Objet de la saisine

Dans ce contexte, la DGS et la Direction de la prévention des risques (DGPR) ont saisi l'Anses le 2 juillet 2018, afin d'évaluer la pertinence d'un potentiel risque cumulé pour les substances benzène, toluène et xylènes et dans la mesure du possible, de construire une VTR pour ce mélange.

L'Anses a décidé d'ajouter l'éthylbenzène comme substance présente dans le mélange, cette substance étant généralement présente dans l'environnement, conjointement avec le toluène, les xylènes et le benzène.

L'Anses a décidé d'instruire cette saisine en :

1. proposant une méthodologie générale d'élaboration de VTR pour des mélanges de substances,
2. répondant spécifiquement à la question d'un potentiel effet cumulé du mélange des substances chimiques suivantes : BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène, xylènes).

La prise en compte de l'exposition humaine à des mélanges ainsi que le risque potentiel sur la santé associé est un enjeu méthodologique pour l'Anses notamment dans le cadre de ses

missions pérennes d'expertise d'élaboration de valeurs de référence. Ces valeurs sont utiles, d'une part, pour l'évaluation des risques sur la santé, et, d'autre part, aux pouvoirs publics en vue de fixer des concentrations réglementaires de substances chimiques qu'il convient de ne pas dépasser pour préserver la santé des populations (générale, travailleurs). Jusqu'à présent, il n'était proposé que des valeurs de référence pour une substance individuelle ne prenant pas en compte l'exposition complexe de la population.

L'Anses a lancé dès 2016 des travaux d'expertise collective en vue d'élaborer des valeurs de référence pour des mélanges de substances chimiques. Les réflexions associées ont été mises en œuvre selon plusieurs phases d'expertise collective avec des objectifs distincts.

Dans un premier temps, l'Anses a dressé un état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans les domaines de l'évaluation des risques sanitaires et de la construction de valeurs de référence. Dans la continuité de ce travail, l'Anses a mis en application les recommandations issues de l'état des lieux en vue d'élaborer des VGAI pour un mélange d'aldéhydes élargi à d'autres substances irritantes présentes dans l'air intérieur. Les réflexions sont structurées selon les recommandations du rapport méthodologique et permettent d'éprouver les possibilités d'application des modèles existants. Ces travaux font ainsi l'objet de 2 autres rapports publiés conjointement au présent document.

Plus largement, les enseignements issus de cette mise en application ont vocation à alimenter les réflexions sur l'élaboration de méthodes pour la prise en compte des effets des mélanges au sein de l'Agence, notamment dans le cadre de la mise à jour du guide méthodologique pour la construction de valeurs de référence.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au groupe de travail (GT) « BTEX », rattaché au comité d'experts spécialisé « Valeurs sanitaires de référence » (CES VSR), l'instruction de cette saisine.

Les travaux d'expertise du GT ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES. Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

La version finale du rapport a été adoptée le 11 mars 2022 par le CES VSR, sauf un membre qui s'est abstenu. Sa position est détaillée en annexe 2. De plus, un expert du GT VTR BTEX a exprimé une position divergente détaillée dans la même annexe.

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

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

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

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

2 Description de la stratégie d'élaboration de VTR pour les mélanges de substances

2.1 État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges - Réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence

La question des mélanges, si elle reste complexe, peut aujourd'hui être traitée dans les démarches d'expertise, compte tenu de l'existence du savoir-faire et du développement de modèles simplifiés faisant consensus. L'Anses a réalisé une expertise qui portait sur un état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans le domaine de l'évaluation des risques pour la santé humaine et la construction de valeurs de référence. Ce travail a fait l'objet d'un rapport « État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges » (Anses, 2022) dont les conclusions et recommandations au regard de la sélection d'un modèle de construction sont rapportées ci-dessous.

Des recommandations d'organismes institutionnels, comme celles de l'US EPA, de l'ATSDR, de l'EFSA, et du SCHER, soulignent l'importance de la mise en application des modèles simplifiés et formalisent des approches méthodologiques considérant les connaissances sur l'interaction ou non des contaminants. L'hypothèse la plus communément recommandée repose sur le concept d'additivité des doses ou des réponses. De nombreuses études ont testé le modèle d'additivité des doses (ou concentrations) pour différents mélanges et ont montré que ce modèle prédit raisonnablement la toxicité des mélanges de contaminants ayant des propriétés toxicologiques semblables sur un organe ou système cible aux faibles doses/concentrations. Des modèles intégrant les notions d'antagonisme (effet infra-additif) et de synergie (effet supra-additif) sont nécessaires pour mieux appréhender les effets de mélanges de substances, lors d'expositions à des doses/concentrations élevées. En revanche, aux faibles doses, les interactions entre substances restent peu susceptibles de générer un résultat très différent de ceux produits par le modèle additif, au regard des incertitudes inhérentes à la démarche même d'évaluation des risques.

Aussi, il est recommandé de :

1. réaliser des profils toxicologiques intégrant les données sur des interactions potentielles pour les co-expositions les plus fréquentes ;
2. utiliser l'hypothèse d'additivité par défaut, si les données recueillies dans les profils ne la remettent pas en cause :
 - selon une approche simplifiée d'additivité (méthode du Hazard Index, HI) pour les substances dont le mécanisme n'est pas suffisamment connu, telle que proposée dans le schéma conceptuel de Meek *et al.* (2011 cité dans Anses, 2022). Il est intéressant de compléter cette approche par l'identification des principaux constituants déterminant le risque. Ceci permet de limiter de manière significative le risque lié à l'exposition à des mélanges en se focalisant sur la ou les quelques substances déterminantes.
 - selon une approche d'additivité des doses, telle que déjà développée pour les dioxines (selon les Relative Potency Factors RPF ou les Toxic Equivalency factors TEF), pour toutes les substances ayant des mécanismes ou des conséquences cellulaires communes, par exemple pour certains pesticides,

certaines familles de congénères (polybromodiphényléthers (PBDE), composés perfluorés (PFC)) ou pour les substances ayant une action anti-androgénique (recommandation NRC même si pas de mécanisme commun)).

Le GT « BTEX » s'est fondé sur le rapport « État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges » (Anses, 2022) pour proposer une méthodologie générale d'élaboration de VTR pour des mélanges de substances (VTR_{mélange}).

2.2 Formulation de la problématique « VTR_{mélange} »

2.2.1 Description/caractéristique du mélange à considérer

La sélection du mélange à considérer ne fait pas partie du périmètre de cette saisine. En revanche, cette étape est décrite dans le rapport « État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges » (Anses, 2022). Le regroupement des contaminants à prendre en compte est généralement réalisé selon quatre démarches complémentaires : i) regroupement selon la famille chimique pour les substances ayant une similitude de structures et de mécanismes d'action ; ii) selon un effet sanitaire commun ; iii) selon l'exposition réelle de la population ; iv) en combinant des approches de contaminations/expositions dans l'environnement et d'effets communs.

Il convient, de fait, de s'assurer que le regroupement des substances, pour lesquelles la construction d'une « VTR_{mélange} » est souhaitée, soit en cohérence avec une ou plusieurs des quatre démarches précédemment citées et de s'interroger sur la pertinence d'ajouter d'autres substances au mélange à considérer, en fonction d'analogies structurales et/ou d'effets communs et/ou de probabilité de co-exposition.

2.2.2 Cadrage de la problématique

En fonction du mélange pour lequel une « VTR_{mélange} » est envisagée en vue d'une évaluation des risques cumulés, la ou les voies d'exposition ainsi que la durée d'exposition pertinentes seront prises en compte afin d'identifier les données appropriées permettant de caractériser les dangers du mélange et des substances qui le composent.

2.3 Sélection d'un modèle d'élaboration de « VTR_{mélange} » pour un mélange

Le choix du modèle de construction d'une « VTR_{mélange} » est dépendant des données disponibles relatives au mélange lui-même ainsi qu'à chacune des substances le constituant (cf. §2.3.1). Deux approches sont décrites ci-dessous : l'approche globale du mélange (cf. §2.3.2) et l'approche par constituant du mélange (cf. §2.3.3). Un arbre décisionnel (Figure 1) schématise la démarche séquentielle proposée par le GT « BTEX ».

Il convient de noter que seule l'approche globale permet d'établir une VTR pour le mélange (VTR_{mélange}), telle que définie par l'Anses (Anses, 2017a). En revanche, l'approche par constituant est une démarche permettant une évaluation des risques

cumulés résultant de l'exposition combinée aux substances présentes dans le mélange considéré.

La vérification du respect de la VTR_{mélange} doit toujours être associée à celle du respect des VTR de chacun des composants du mélange.

2.3.1 Stratégie de recherche bibliographique

Une recherche bibliographique est réalisée afin de collecter les données disponibles relatives aux dangers du mélange lui-même et des substances le constituant. En l'absence de données disponibles sur toutes les substances du mélange, les données sur une substance marqueur de l'exposition au mélange sont recherchées.

La collecte des données se fonde sur une analyse approfondie et documentée des données scientifiques pertinentes provenant de bases de données appropriées, et en particulier, de la littérature scientifique ayant déjà fait l'objet d'une évaluation par les pairs.

Lorsque des documents de synthèse et des monographies ont déjà été publiés par des organismes internationalement reconnus, elles sont utilisées comme point de départ pour l'élaboration du profil toxicologique à condition de mettre à jour la bibliographie. Le retour aux articles sources est réalisé à chaque fois que cela est jugé nécessaire et de manière systématique pour les études clés.

Outre l'identification des dangers du mélange et des substances le constituant, cette recherche bibliographie doit permettre l'identification du ou des effets communs des constituants du mélange et des interactions éventuelles. Il convient de tracer les recherches et la méthodologie suivie pour établir la revue de la littérature.

2.3.2 Approche globale

L'approche globale revient à considérer le mélange comme une entité chimique unique, similaire à une substance. Ainsi, tous les constituants du mélange contribuant au résultat de l'évaluation et leurs éventuelles interactions sont pris en compte. L'approche globale est généralement limitée à des évaluations portant sur une exposition directe au mélange, par une seule voie d'exposition (OCDE, 2018 ; EFSA, 2019). La recherche dans la littérature consiste alors en la collecte des données disponibles sur le mélange lui-même.

L'évaluation du mélange par cette approche nécessite donc d'établir un profil toxicologique et de recueillir les informations sur la relation dose-réponse pour le mélange concerné.

Un défi pour cette approche est que le mélange testé dans les études disponibles soit représentatif de celui auquel la population est exposée. En d'autres termes, que les proportions relatives des différents composants du mélange dans les études soient voisines de celles observées dans la population qui fait l'objet d'une évaluation quantitative des risques sanitaires.

2.3.2.1 Élaboration d'une VTR_{mélange}

La construction d'une VTR_{mélange} se doit de respecter la méthodologie générale de construction de l'Anses (Anses, 2017a). L'établissement d'un profil toxicologique doit permettre de caractériser le danger et d'établir des relations entre la dose du mélange considéré et les effets néfastes.

La construction d'une VTR pour le mélange considéré nécessite de :

- recenser et analyser les données de toxicité disponibles pour le mélange,
- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique¹,
- identifier l'hypothèse de construction de la $VTR_{\text{mélange}}$ (seuil ou sans seuil),
- choisir une (ou plusieurs) étude clé de bonne qualité et la plus pertinente (épidémiologique ou toxicologique),
- définir un point de départ (PoD ou *point of departure*) chez l'Homme ou l'animal à partir de cette étude (NOAEL/C, LOAEL/C, BMDL/CL, RR, OR, etc.),
- réaliser des ajustements temporels et/ou allométriques, si nécessaire,
- pour une $VTR_{\text{mélange}}$ à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude au PoD de manière à dériver une $VTR_{\text{mélange}}$ applicable à l'ensemble de la population ; pour une $VTR_{\text{mélange}}$ sans seuil, réaliser une extrapolation linéaire à l'origine afin de déterminer un excès de risque unitaire.

2.3.2.2 Incertitudes et identification des données manquantes

Les données exploitables pour des mélanges sont rares et souvent incomplètes. De plus, il est nécessaire que les mélanges testés soient quantitativement comparables aux mélanges auxquels les populations sont exposées en termes de concentration (faibles doses) et également en concentration relative de chaque constituant. Ces données doivent permettre d'établir des relations dose-réponse.

Concernant les données humaines, outre les incertitudes inhérentes aux données épidémiologiques, les associations avec un événement de santé sont généralement calculées pour des substances prises individuellement et non directement avec un mélange considéré. Il est toutefois à noter qu'en pratique, l'association peut être prise en compte pour certaines classes de composés (tels les coupes de distillation du pétrole, les polychlorodibenzodioxines et polychlorodibenzofuranes ou PCDD/F, les polychlorobiphényles ou PCB, les oxydes d'azote, les hydrocarbures halogénés dans l'eau, les hydrocarbures aromatiques polycycliques ou HAP). Néanmoins, l'établissement d'une relation dose-réponse exploitable pour le mélange s'avère de fait difficile.

2.3.3 Approche par constituant du mélange

Contrairement à l'approche globale, l'approche par constituant ne permet pas d'établir une $VTR_{\text{mélange}}$ mais permet de développer des outils d'évaluation des risques cumulés résultant de l'exposition combinée aux substances présentes dans le mélange considéré.

2.3.3.1 Présence d'effets communs

Sur la base des données collectées sur chaque constituant du mélange, il convient de :

- identifier tous les effets néfastes communs à l'ensemble des substances,
- sélectionner l'effet critique commun aux constituants du mélange et survenant aux doses ou concentrations les plus faibles. Il convient de noter que cet effet commun peut survenir à des doses/concentrations supérieures à celles des effets critiques retenus pour l'élaboration des VTR individuelles des constituants du mélange.

¹ Dans le cadre de la construction d'une VTR, l'effet critique, retenu parmi les effets néfastes jugés pertinents, correspond à l'effet néfaste le plus sensible apparaissant à la plus faible dose chez la population la plus vulnérable (Anses, 2017).

2.3.3.1.1 Hypothèse d'additivité versus autres type d'interactions

Si la revue de la littérature permet d'identifier des données toxicocinétiques (modèles PBPK) et/ou toxicodynamiques (études comparatives de la toxicité du mélange et de chacun des constituants qui le composent) aux concentrations considérées, il convient d'évaluer si ces données mettent en évidence une interaction différente de l'additivité ou au contraire si elles permettent d'étayer un effet additif des différents constituants.

Si aucune donnée de cet ordre n'est disponible, l'hypothèse d'additivité est retenue par défaut, dans le cas d'exposition à de faibles doses, telles que celles qui résultent généralement des expositions environnementales.

2.3.3.1.2 Cas n° 1 : l'hypothèse d'additivité applicable

Le modèle de l'additivité consiste à additionner les doses ou les réponses biologiques de chaque constituant d'un mélange pour évaluer le risque du mélange. L'additivité des doses implique que les substances du mélange agissent sur une même cible biologique et que seule l'amplitude de la réponse diffère. Ainsi, la toxicité de chaque substance est déduite relativement à une autre de manière quantitative.

Trois modèles basés sur l'hypothèse d'additivité des doses sont actuellement utilisés pour l'évaluation de risque d'un mélange (Anses, 2022). En fonction des données disponibles pour l'effet commun considéré sur les substances prises individuellement, le GT BTEX préconise par ordre de préférence :

- Relative Potency Factors/ Toxic Equivalency Factors (RPF / TEF),
- Point of Departure Index (PoDI),
- Hazard Index (HI) avec élaboration de valeurs toxicologiques fondées sur l'effet commun considéré pour les différents constituants du mélange (VTM_{EC}).

Dans le cas d'effet sans seuil de dose, seule l'approche RPF/TEF est utilisable.

Si les données disponibles sur les différents constituants du mélange ne sont pas suffisamment robustes pour établir des RPF_{EC} , $PODI_{EC}$ ou des VTM_{EC} alors, l'approche détaillée dans le paragraphe 2.3.3.2 est suivie.

2.3.3.1.2.1 RPF_{EC}

L'approche des facteurs d'équivalence toxique (TEF), généralisée sous l'appellation « *relative potency factors* » (RPF ou facteurs de puissance relative) correspond à l'application même du modèle d'additivité des doses où chaque constituant peut être considéré comme une dilution du constituant le plus toxique du mélange ou celui pour lequel les données toxicologiques comportent le moins d'incertitudes. Dans ce cadre, on exprime la dose du mélange (D_{mix}) comme la somme des doses de chaque constituant (D_i) pondérée par son facteur de puissance relative (RPF_{ECi}) ou son facteur d'équivalence toxique (TEF_{ECi}) pour l'effet commun considéré.

Initialement, ce modèle a été développé pour des familles de congénères partageant le même mode d'action (e.g. les PCDD/F sur la base de la liaison au récepteur AhR pour Aryl hydrocarbon Receptor).

Cette approche est également réalisable dès lors qu'il est possible d'identifier un effet néfaste commun et un mode d'action suffisamment connu pour chacun des constituants du mélange. Elle implique la disponibilité de données permettant une comparaison directe de la puissance de l'effet néfaste ou d'un événement clé biologique, induit par chacun des constituants du mélange. L'utilisation d'AOP² (*Adverse Outcome Pathway* ou voie de signalisation toxicologique menant à des effets délétères) ou de réseau d'AOP peut s'avérer utile dès lors que ces AOP ont fait l'objet d'une validation par la communauté scientifique.

Cette approche nécessite de disposer d'études réalisées selon des protocoles similaires pour tous les constituants et pour l'effet néfaste ou l'évènement clé commun. En effet, dès lors qu'on s'intéresse à la notion de toxicité relative, des différences de protocole (différentes durées ou de voies d'exposition, différents indicateurs toxicologiques, etc.) peuvent générer des distorsions dans les potentiels toxiques.

Dans ce cadre, on exprime la dose d'exposition du mélange (D_{mix}) comme la somme des doses de chaque constituant, pondérées par des facteurs de puissance relative construits à partir de la comparaison des PoD des constituants par rapport à un composé de référence du mélange pour l'effet commun considéré.

$$D_{mix} = \sum_{i=1}^n DJE_i \cdot RPF_{ECi} \text{ OU TEQ} = \sum_{i=1}^n DJE_i \cdot TEF_{ECi}$$

Avec D_{mix} = dose d'exposition du mélange somme des doses de chaque constituant i pondérées par leur facteur de puissance relative (RPF_{ECi}) ou leur facteur d'équivalence toxique (TEF_{ECi}) pour l'effet commun considéré,

TEQ = Toxicity equivalency quantity (Quantité équivalente toxique),

DJE_i = dose journalière d'exposition au constituant i .

Lors du calcul du risque pour les substances à seuil, le quotient de danger (QD_{EC}) du mélange est ensuite calculé comme le ratio entre la dose du mélange (D_{mix}) et la VTM_{EC} pour le constituant de référence. Il convient de noter que le composé de référence étant le constituant pour lequel l'effet commun considéré est le plus renseigné, la VTR est généralement égale à la VTM_{EC} .

2.3.3.1.2.2 PoD_{EC}

Cette approche nécessite de disposer de données similaires (même espèce, même population, même durée) pour un effet commun et pour tous les congénères du mélange.

Ce modèle consiste à comparer l'exposition des substances directement aux indicateurs de toxicité animale recueillis dans la littérature pour l'effet commun (PoD). Dans l'idéal, il est souhaitable que les PoD soient de même nature (NOAEL/C ou LOAEL/C ou BMD/CL). Les facteurs d'incertitude n'étant pas pris en compte dans cette approche, le résultat est présenté avec une marge de sécurité équivalente à un facteur d'incertitude global (généralement 100, correspondant à la variabilité inter et intra-espèces).

² Un « *Adverse Outcome Pathway* » (AOP) est une construction conceptuelle qui représente les connaissances disponibles concernant le lien entre un évènement déclencheur au niveau moléculaire (comme par exemple, une interaction moléculaire entre une substance chimique et une biomolécule spécifique) et un effet néfaste sur l'organisme. Les AOP sont généralement constitués d'une série d'évènements qui ont lieu à différents niveaux de l'organisation biologique (molécules, cellules, organes, population) (INERIS, 2016).

$$PODI_{EC} = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{PoD_{ECi}}$$

Avec $PoDI_{EC}$ = Point of Departure Index (indice de point de départ) pour l'effet commun,

DJE_i = dose journalière d'exposition au constituant i ,

PoD_{ECi} = Point de départ (dose critique) pour l'effet commun considéré pour le constituant i .

2.3.3.1.2.3 HI_{EC}

Cette approche consiste à sommer les QD de chaque constituant du mélange dès lors qu'on dispose, pour chaque constituant, d'une VTR fondée sur l'effet commun identifié ou VTM_{EC} . Si la VTR d'un ou plusieurs constituants n'est pas établie sur l'effet commun considéré, il convient de construire des VTM_{EC} ad hoc pour l'effet commun si des données appropriées sont disponibles.

$$HI_{EC} = \sum_{i=1}^n QD_{ECi} = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{VTM_{ECi}}$$

Avec QD_{ECi} : quotient de danger du constituant i pour l'effet commun considéré,

DJE_i : dose journalière d'exposition au constituant i ,

VTM_{ECi} : VT fondé sur l'effet commun considéré pour le constituant i .

2.3.3.1.3 Cas n° 2 : Hypothèse d'additivité non applicable

Aux faibles doses d'exposition, les interactions entre constituants d'un mélange restent peu susceptibles de générer un risque très différent de celui évalué avec l'hypothèse d'additivité, au regard des incertitudes inhérentes à la démarche même d'évaluation quantitative des risques sanitaires. Si des données toxicocinétiques et/ou toxicodynamiques mettent en évidence que l'effet du mélange ne peut pas être prédit par le principe de l'additivité, le terme interaction(s) est employé. Il peut s'agir d'interactions négatives, antagonisme/effet infra-additif, ou positives, synergie/effet supra-additif.

Certains modèles intégrant les notions d'antagonisme et de synergie ont été proposés notamment pour les interactions entre deux médicaments (Anses, 2022). Soulignons que ces modèles ne sont à considérer que pour des expositions à des doses/concentrations relativement élevées et à condition de disposer d'un corpus de données à même d'étayer les bases mécanistiques de ces interactions.

Cependant, pour une large majorité de mélanges, les modèles intégrant les notions d'antagonisme et de synergie ne sont pas disponibles compte tenu du peu ou de l'absence de données. Dans cette situation, le GT préconise une approche pragmatique, comme suit.

2.3.3.1.3.1 Effet infra-additif (antagonisme)

Si des données disponibles permettent d'identifier une interaction antagoniste ou mettent en évidence un possible effet infra-additif entre les constituants du mélange, une approche fondée sur l'hypothèse d'additivité est recommandée en l'absence de modèle approprié (cf. § 2.3.3.1.2). Il s'agit d'une approche par défaut qui peut conduire à une surestimation du risque.

2.3.3.1.3.2 Effet supra-additif (synergique)

Si des données permettent de suspecter une interaction synergique ou mettent en évidence un effet supra-additif du mélange, une approche au cas par cas est utilisée. Cette approche est fondée sur une décision d'experts prenant en compte les données disponibles sur les composés, leurs fractions présentes dans le mélange et les modèles de prédiction (QSAR, read-across, etc.). Cette approche doit garantir l'absence d'effet critique à une dose donnée. Par conséquent, les experts peuvent décider de se placer dans la situation du « pire scénario » en utilisant la VTR la plus restrictive des composés du mélange et en ajoutant des facteurs d'incertitude supplémentaires, tel un UF_D pour l'insuffisance des données (en qualité et en quantité), le cas échéant.

2.3.3.2 Absence d'un effet commun

Si les constituants du mélange considéré ne partagent pas d'effet commun identifié dans les données disponibles, il n'est théoriquement pas attendu d'effet cumulé. Cependant, pour de nombreuses substances, le manque de données ne permet pas de s'assurer de l'absence d'effet commun. Aussi, dans un principe de précaution pour les substances pour lesquelles peu de données sont disponibles, le GT préconise les approches de screening suivantes selon les données disponibles pour chaque constituant.

2.3.3.2.1 *VTR disponibles pour chacun des constituants*

Il s'agit de l'approche la plus utilisée, qui consiste à sommer les QD de chaque constituant du mélange. Son intérêt repose sur sa simplicité d'utilisation et sa capacité à être utilisable dans toutes les situations, dès lors qu'on dispose de VTR pour l'ensemble des constituants du mélange. La VTR de chaque constituant est fondée sur un effet critique, qui peut être différent d'un constituant à l'autre. Cependant, la somme des QD conduit généralement à une surestimation du risque, jamais à une sous-estimation.

$$HI = \sum_{i=1}^n QD_i = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{VTR_i}$$

Avec QD_i : quotient de danger du constituant i ,

DJE_i : dose journalière d'exposition au constituant i

VTR_i : VTR du constituant i .

2.3.3.2.2 *VTR non disponibles pour un ou plusieurs constituants*

En l'absence de VTR disponibles pour chacun des constituants, une approche au cas par cas est suivie. Cette approche repose sur une décision d'experts.

Par exemple, pour un mélange d'analogues structuraux pour lesquels peu de données toxicologiques sont disponibles mais une VTR est disponible pour certains d'entre eux, la VTR la plus restrictive est retenue et appliquée à l'ensemble des congénères. Cette approche « *surrogate* » a été mise en œuvre pour les fractions d'hydrocarbures (TPHCWG, 1997 ; US EPA, 2009).

En l'absence de donnée, l'utilisation de QSAR permet d'étayer la lecture croisée des données disponibles sur un congénère aux autres congénères.

2.3.3.3 Incertitudes et identification des données manquantes

Les modèles mis en œuvre sont dépendants du corpus de données disponibles.

- A faible dose (environnementale), les interactions infra-ou supra-additives sont rares. Il peut en aller différemment pour les expositions professionnelles qui sont plus élevées, mais dans ce cas, des données spécifiques sur les interactions sont rarement disponibles. Les modèles intégrant les différents types d'interaction doivent être développés.
- Lorsque le concept d'additivité est applicable, l'approche RPF est la plus scientifiquement robuste, mais les données mécanistiques nécessaires pour sa mise en œuvre sont rarement disponibles. Actuellement, seuls 19 AOP publiés par l'Organisation de coopération et du développement économique (OCDE) ont fait l'objet d'une procédure de validation, telle que définie par ce même organisme. Le développement d'AOP permettra à terme de tester tous les constituants d'un mélange pour un évènement clé commun en amont de l'effet néfaste afin d'établir les RPF robustes.

Les étapes de « *screening* » mentionnées dans le paragraphe 2.3.3.2 peuvent conduire à une surestimation des risques cumulés. Cependant, elles permettent de déterminer si un risque cumulé est attendu et de générer des données idoines afin d'affiner l'évaluation des risques cumulés.

2.4 Proposition d'arbre décisionnel pour la construction d'une « $VTR_{\text{mélange}}$ »

L'arbre décisionnel présenté dans la Figure 1 résume la démarche d'évaluation des risques liés à l'exposition à des mélanges de substances chimiques, telle qu'elle a été développée dans les chapitres précédents.

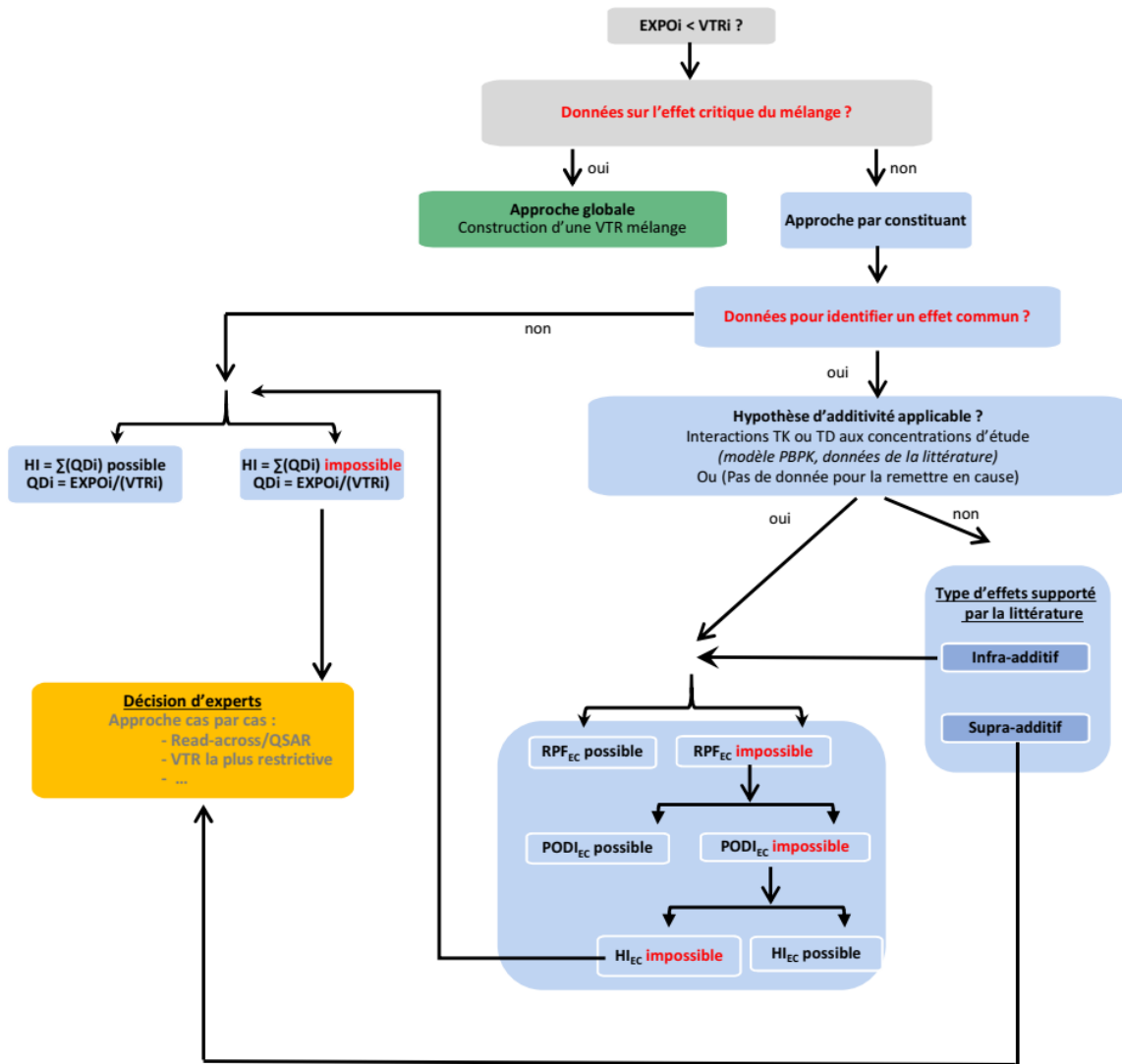


Figure 1 : Arbre décisionnel pour l'évaluation des risques liés au mélange

3 Application au mélange BTEX

3.1 Formulation de la problématique VTR_{BTEX}

3.1.1 Description/caractérisation du mélange BTEX

L'Anses a été saisi par la DGS et la DGPR afin d'évaluer la pertinence de prendre en compte un potentiel risque cumulé pour les substances benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX) et, dans la mesure du possible, de construire une VTR pour ce mélange.

Le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les xylènes (m-p-xylènes et o-xylène) sont des composés organiques volatils (COV). Ce sont des hydrocarbures aromatiques monocycliques (fraction carbonée C6-C8) qui présentent de fait une analogie structurale.

Les BTEX sont susceptibles d'engendrer des effets sanitaires communs lors d'exposition aiguë (irritation des muqueuses et de la peau, dépression du système nerveux central ou SNC) ou chronique (encéphalopathie : troubles cognitifs, de l'humeur et du comportement).

Ces composés proviennent de diverses sources (préparations solvantées d'usage domestique ou professionnel, carburants, gaz d'échappement de véhicules, fumée de combustion du tabac, de l'énergie fossile, matériaux de construction, proximité d'anciens sites industriels). Il en résulte une co-exposition probable à ces contaminants de l'air intérieur.

Au regard de leur analogie structurale, d'effets toxiques communs et d'une forte probabilité de co-exposition, le GT considère pertinente la prise en considération des substances benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes en mélange.

3.1.2 Cadrage de la problématique

Concernant le site à l'origine de cette saisine (groupement scolaire), les caractéristiques sont les suivantes,

- la source d'exposition provient de la potentielle pollution des sols suite à une activité industrielle antérieure. Pour les substances volatiles que sont les BTEX, les pollutions présentes dans les sols sont susceptibles de conduire à une pollution de l'air intérieur, en l'absence d'étanchéité des fondations et des planchers des bâtiments et de ventilation suffisante ;
- la voie d'exposition retenue est la voie respiratoire. En effet, les composés BTEX sont des substances très volatiles aux températures habituelles et les mesurages réalisés dans l'air intérieur des lieux de vie ont confirmé la présence de BTEX dans l'air des lieux de vie ;
- les populations concernées sont les personnes fréquentant ces locaux, notamment les enfants âgés de 6 à 10 ans.

Au regard des considérations susmentionnées, le GT a considéré la faisabilité d'élaborer une VTR_{BTEX} pour une exposition chronique par inhalation pour protéger la population générale, y compris les populations sensibles comme les enfants

Pour le site à l'origine de cette saisine, le diagnostic environnemental a montré que les concentrations quantifiées du benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes étaient toutes

inférieures à leur VGAI et/ou VTR chronique respectives justifiant de s'intéresser à un possible effet « mélange ».

3.2 Sélection d'un modèle d'élaboration d'une « VTR_{BTEX} »

3.2.1 Stratégie recherche bibliographique

Concernant le mélange BTEX, la collecte des informations nécessaires à la réalisation de cette expertise a été réalisée sur la base des rapports existants au niveau international sur le mélange BTEX (ATSDR, 2004). Dans un second temps, une recherche bibliographique complémentaire (revues à comité de lecture, ouvrages de référence ou littérature grise) a également été réalisée sur les bases de données Pubmed et Scopus à partir de 2004 (année de publication du rapport de l'ATSDR) visant à identifier les données disponibles sur les effets du mélange BTEX (cf. annexe 3).

Concernant les différents constituants du mélange BTEX, la collecte des informations nécessaires à la réalisation de cette expertise a été réalisée également sur la base des rapports existants publiés par l'Anses sur le benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (Anses, 2014, 2016, 2017b, 2020), ainsi que sur les monographies citées en références dans ces mêmes rapports. Une actualisation des données à partir des rapports de l'Anses pour le toluène et l'éthylbenzène a été réalisée jusqu'en septembre 2021 (cf. annexes 4 et 5).

Le rapport de l'Anses relatif au benzène (Anses, 2014) a été complété par une mise à jour bibliographique jusqu'à septembre 2021 dans le cadre de la révision de la VTR (cf. annexe 6).

3.2.2 Approche globale

3.2.2.1 Collecte des données sur le mélange BTEX

Dans son rapport « *Interaction profil for Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes (BTEX)* » publié en 2004, l'ATSDR avait conclu qu'aucune étude permettant de caractériser les dangers pour la santé humaine et d'établir une relation dose-réponse pour une exposition au mélange BTEX n'était disponible.

Dans une revue récemment publiée portant sur les effets sur la santé (notamment les effets neurocomportementaux) d'une exposition par inhalation au benzène, toluène, éthylbenzène ou xylènes, les auteurs ont également souligné l'absence de donnée expérimentale investiguant les effets de l'exposition combinée au mélange BTEX et ce, quelle que soit la durée d'exposition considérée (Davidson *et al.*, 2021).

Une étude expérimentale de toxicité subchronique par inhalation, réalisée chez des souris mâles Kunming exposées à un mélange de formaldéhyde, benzène, toluène et xylènes à de faibles doses (0, 1/2, 1, 5 et 10 fois la norme de qualité de l'air intérieur en Chine) a montré une altération du comportement des souris dans les tests de labyrinthe aquatique de Morris et de la force de préhension (Wang *et al.*, 2014). Cependant, l'absence de l'éthylbenzène et la présence de formaldéhyde dans le mélange testé ne permettent pas de retenir cette étude.

Parmi les données épidémiologiques issues de la recherche bibliographique, plusieurs études récentes dédiées à l'évaluation de la qualité de l'air intérieur suggèrent un lien entre une

exposition environnementale à des mélanges de polluants parmi lesquels les BTEX et l'occurrence d'effets respiratoires (rhinites, asthme, altération de la fonction respiratoire) en particulier chez l'enfant (Bolden *et al.*, 2015 ; Cipolla *et al.*, 2016). D'autres études épidémiologiques récentes (Von Ehrenstein *et al.*, 2014 ; Talbott *et al.*, 2015 ; Stingone *et al.*, 2017 ; Webb *et al.*, 2018 ; Yousefian *et al.*, 2018 ; Dellfratte *et al.*, 2019) rapportent des associations entre une exposition à des mélanges de polluants dont les BTEX et des effets neurodéveloppementaux (effets sur les fonctions cognitives et sur le comportement notamment syndromes du spectre autistique). Dans l'étude de Werder *et al.*, les auteurs ont évalué les associations entre les concentrations sanguines de BTEX et les symptômes neurologiques chez les résidents exposés aux BTEX deux à trois ans après l'explosion de la plateforme pétrolière Deepwater Horizon (Werder *et al.*, 2019). Les auteurs montrent que l'augmentation des concentrations en benzène dans le sang est associée à une augmentation de la prévalence des symptômes neurologiques. Les effets neurologiques associés au BTEX sont probablement liés à l'exposition au benzène et, dans une moindre mesure, également au toluène.

3.2.2.2 Élaboration d'une VTR BTEX

Le protocole de ces études, la caractérisation de l'exposition ainsi que la co-exposition à d'autres agents que les BTEX (autres hydrocarbures légers, particules fines, HAP, *etc.*) limitent l'imputation des effets observés aux seuls BTEX et ne permettent pas de retenir ces études pour élaborer une VTR_{BTEX}. **Ainsi, au regard du manque de données sur le mélange BTEX appropriées à l'élaboration d'une VTR, une approche globale ne peut être mise en œuvre.**

3.2.2.3 Incertitudes et identification des données manquantes

Les rares données expérimentales et épidémiologiques disponibles sur le mélange BTEX ne permettent pas de caractériser les dangers du mélange BTEX. Comme recommandé par Davidson *et al.* (2021), des études futures avec des protocoles conçus de manière à explorer les effets à long terme sur la santé et des impacts neurocomportementaux plus subtils d'une exposition environnementale au mélange BTEX s'avèrent nécessaires. Concernant l'air extérieur, les concentrations totales en BTEX ont tendance à varier selon les régions et les saisons sans grande modification de leurs proportions relatives du fait de leurs sources communes, notamment les gaz d'échappement (Mohammadi *et al.*, 2020). Cette relative stabilité des proportions des différents constituants rend propice la mise en œuvre d'étude sur le mélange BTEX lui-même.

3.2.3 Approche par constituants du mélange BTEX

3.2.3.1 Présence d'effets communs

Pour une exposition chronique par inhalation sur la base des données humaines et animales disponibles, le système nerveux central (SNC) s'avère le principal organe cible commun des BTEX (Anses 2008, 2014, 2016, 2017b, 2020). Le tableau ci-après présente les VTR chroniques établies ou retenues par l'Anses pour les quatre substances.

Tableau 1 : VTR chroniques établies ou retenues par l'Anses

Substance	Organisme	Effet critique (étude clé)	PoD	UF	VTR
Benzène VTR à seuil	ATSDR (2007)	Diminution du nombre de lymphocytes B chez l'Homme Lan <i>et al.</i> , 2004 : étude épidémiologique chez des travailleurs	BMCL _{0,25sd} = 0,10 ppm (0,3 mg.m ⁻³) BMCL _{0,25sd ADJ} = 0,03 ppm (0,097 mg.m ⁻³) Exposition moyenne 6,1 ans	10 UF _H = 10	0,01 mg.m ⁻³ (0,003 ppm)
					Niveau de confiance ³ en cours
Toluène	Anses (2017b)	Effets neurologiques (troubles de la vision des couleurs) Zavalić <i>et al.</i> , 1998 : étude épidémiologique chez des travailleurs	NOAEC = 123 mg.m ⁻³ (32 ppm) Ajustement temporel (utilisation d'un modèle PBPK ; équivalence de dose ajustée sur la vie entière) : NOAEC _{ADJ} = 96 mg.m ⁻³ (25 ppm)	5 UF _H = 5	19 mg.m ⁻³ (5 ppm)
					Niveau de confiance ³ fort
Ethylbenzène	Anses (2016)	Effet ototoxique Perte de cellules ciliées externes dans l'organe de Corti Gagnaire <i>et al.</i> , 2007 : étude 13 semaines chez le rat	BMC _{0,5L90} = 119,7 ppm (modèle de Hill – logiciel PROAST 38.9) BMC _{0,5L90 HEC ADJ} = 25,6 ppm	75 UF _A 2,5 UF _H 10 UF _S 3	1,5 mg.m ⁻³ (0,3 ppm)
					Niveau de confiance ³ moyen
Xylènes	US EPA (2003)	Effets neurologiques Altération de la coordination motrice (test du rotarod) Korsak <i>et al.</i> , 1994 : étude de 90 jours chez le rat par inhalation corps entier, 6h/j, 5j/sem	NOAEC = 217 mg.m ⁻³ (50 ppm) Ajustement temporel NOAEC _{ADJ} = 38,75 mg.m ⁻³ Ajustement allométrique NOAEC _{HEC} = 38,75 mg.m ⁻³	300 UF _{A-TD} = 3 UF _H = 10 UF _S = 3 UF _D = 3	0,1 mg.m ⁻³ (0,03 ppm)
					Niveau de confiance ³ moyen/faible

¹ Travaux d'harmonisation des valeurs VGAI et VTR du benzène en cours à l'Anses.

² Valeur guide réglementaire pour l'air intérieur déterminée sur base des expertises de l'Anses et du Haut Conseil de la Santé publique (HCSP) décret n°2011-1727 du 2 décembre 2011. L'Anses avait retenu la VGAI sans seuil de l'OMS (2000).

³ Niveau de confiance établis par l'Anses.

Une exposition répétée aux BTEX en milieu professionnel peut induire des effets neurotoxiques sévères caractérisés par des troubles cognitifs, du comportement, de l'audition et de la vision des couleurs. Les BTEX font partie des solvants visés par le tableau n°84 des maladies professionnelles dans le régime général de la Sécurité sociale et le tableau n° 48 du régime agricole (syndrome ébrieux ou narcotique pouvant aller jusqu'au coma et encéphalopathies caractérisées par des altérations des fonctions cognitives).

Les effets du benzène retenus comme effets critiques par l'Anses pour l'élaboration de VTR sont ses effets hématotoxiques à seuil de dose (dépression médullaire) et sans seuil de dose (leucémie) (Anses, 2008 et 2014). Cette toxicité hématologique n'est pas partagée par les autres composants du ménage BTEX et ne peut donc être retenue comme effet critique pour la production de VTR_{EC}.

La VTR chronique par inhalation de l'éthylbenzène retenue par l'Anses repose sur des effets ototoxiques causés par la perte irréversible des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti (Anses, 2016). Le para-xylène induit également une diminution d'audition par le même mécanisme d'action. Expérimentalement, ces effets ototoxiques sont également partagés par le toluène, mais pas par le benzène ou les isomères ortho- et méta du xylène. Ils ne peuvent donc pas être retenus comme effets critiques pour l'identification de VTR_{EC}. Outre la toxicité

cochléaire, une altération de l'audition liée à une inhibition transitoire du réflexe de protection de l'oreille moyenne contre le bruit (réflexe stapédien) est également soupçonnée comme mécanisme d'action sous-tendant l'ototoxicité des solvants organiques (Anses, 2020). Cependant, les données disponibles sur cet effet sont insuffisantes pour permettre de l'utiliser pour identifier des VTM_{EC}.

Des effets neurotoxiques ont été retenus comme effet critique pour l'élaboration des VTR chroniques par inhalation du toluène (altération de la coordination motrice) et des xylènes (trouble de la vision des couleurs).

In fine, les effets neurotoxiques les mieux documentés pour tous les composants du mélange BTEX sont les effets aigus de dépression du SNC (syndrome ébrieux, puis troubles de conscience) et chroniques (troubles cognitifs, du comportement et de la vision des couleurs et/ou des contrastes). Les mécanismes des altérations fonctionnelles du SNC possiblement observées suite à une exposition aiguë ou chronique sont discutés. Les mécanismes les plus souvent proposés reposent sur une altération de la fluidité membranaire et sur une modification fonctionnelle de canaux membranaires des neurones, une altération de la synthèse des neurotransmetteurs, de leur libération, de leur dégradation et de leur liaison aux récepteurs, des dommages directs des cellules nerveuses par stress oxydant et/ou leur apoptose (Anses, 2016, 2017, 2020).

Pour une exposition chronique par inhalation, les experts du GT considèrent que la neurotoxicité est l'effet commun le plus manifeste. Cependant, si les troubles de la coordination (VTR xylènes) et de la vision (VTR toluène) sont des proxys de l'atteinte du SNC par les solvants organiques dont les BTEX, l'ototoxicité n'est en revanche pas commune à tous les BTEX dépendant d'un mode d'action en lien avec leur encombrement stérique.

3.2.3.1.1 Hypothèse d'additivité versus autres interactions entre les composés du mélange

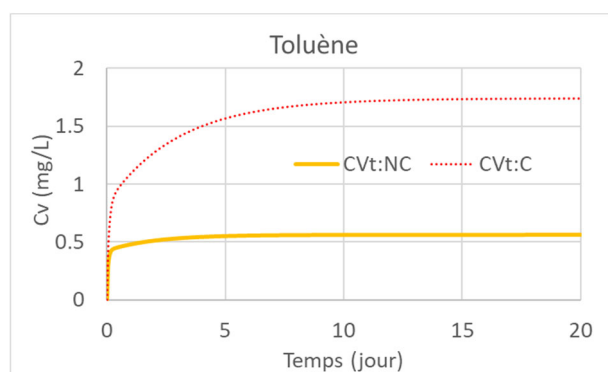
Données toxicocinétiques

Sur la base des modélisations PBPK, l'ATSDR a conclu en 2004 que, pour des concentrations inférieures à 20 ppm, les effets d'une exposition conjointe aux BTEX sont peu susceptibles de déroger au concept d'additivité (interaction métabolique négligeable).

Afin de valider l'hypothèse d'additivité et l'absence d'interaction aux faibles doses, une modélisation à l'aide du modèle PBPK BTEX d'une exposition au mélange BTEX à des concentrations égales à leurs VTR chroniques respectives a été réalisée par le GT « BTEX ». Le modèle BTEX provient à l'origine du groupe de Tardif *et al.* (Haddad *et al.*, 2000 ; Tardif *et al.*, 1995). Ce modèle pour des raisons pratiques et de conformité d'application par l'ATSDR a été recodé sur la plateforme de Berkeley Madonna® (BM) et validé pour sa prédictibilité comparée à celle du modèle original (Ruiz *et al.*, 2020). Ce recodage a été rendu nécessaire en raison de la discontinuité de la plateforme originale par la compagnie AEGIS®. C'est cette version du modèle sur BM® qui a été utilisée pour les présentes simulations. Il s'agit d'un modèle à 5 compartiments (les poumons, le tissu adipeux, les tissus faiblement et richement perfusés et le foie). Chaque compartiment est perfusé par la circulation systémique. Le foie est l'organe majeur pour le métabolisme. L'élimination se fait par l'exhalation au niveau du poumon et par élimination biliaire vers les fèces. Les paramètres sont ceux utilisés dans le modèle original (Haddad *et al.*, 2000 ; Tardif *et al.*, 1995)

Ce modèle a été appliqué aux quatre constituants du BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène et m-xylène) individuellement pour des concentrations égales à leurs VTR chroniques respectives établies par l'Anses, soit 0,003 ; 5 ; 0,34 et 0,03 ppm (Tableau 1), puis aux quatre composés en mélange.

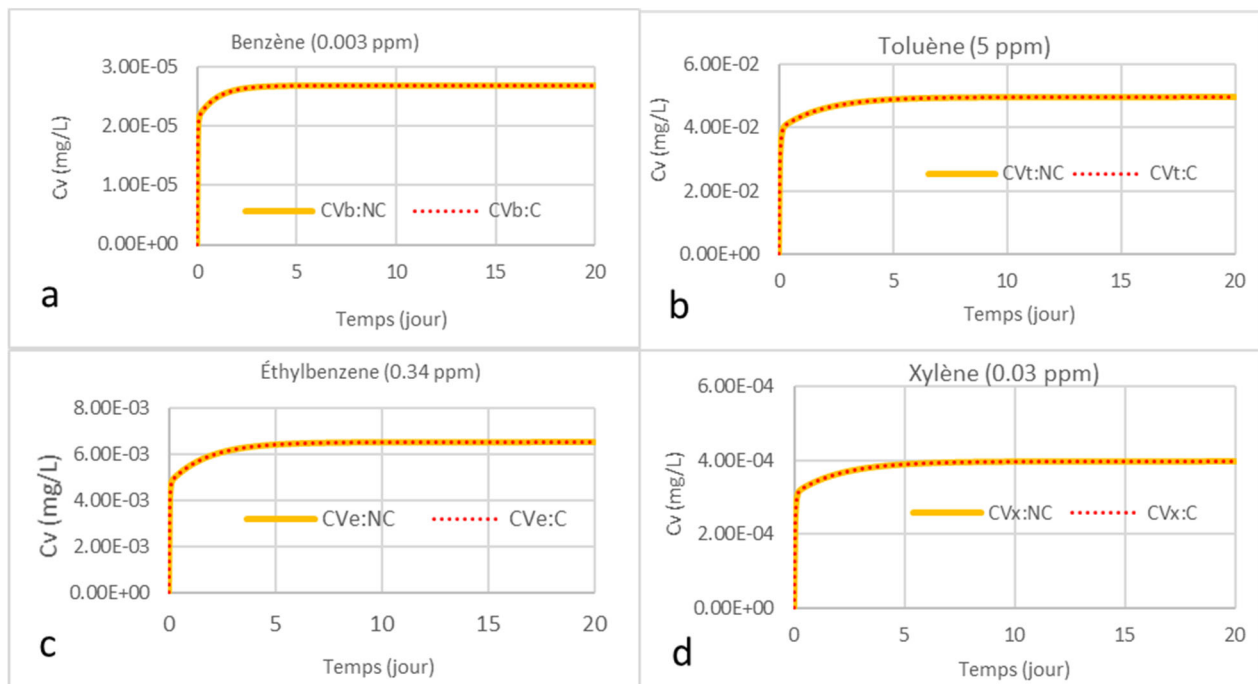
Comme les demi-vies d'élimination sanguine des 4 hydrocarbures sont relativement courtes, un plateau survient rapidement lors d'exposition continue aux doses correspondant aux VTR chroniques et ce en moins de 6 jours. Ici, l'influence relative des composés en mélange pourrait se traduire par l'augmentation du niveau d'absorption ou encore de la diminution du taux de formation des métabolites. Une diminution du taux métabolique d'un des composés résulterait en une augmentation de la concentration plasmatique du composé parent. À titre d'exemple pour donner une représentation graphique une simulation d'un mélange BTEX comprenant du benzène (5 ppm), toluène (50 ppm), l'éthylbenzène (75 ppm) et du m-xylène (50 ppm) a été faite durant 20 jours en continu. Cette modélisation révèle que pour le toluène la concentration veineuse (C_v) est 3 fois plus élevée lors d'une compétition enzymatique des composés en mélange comparé à une exposition individuelle (Figure 2). Ces concentrations sont bien au-dessus des VTR, mais permettent de visualiser un exemple d'effet d'un mélange sur la concentration d'un composé comme ici, le toluène.



Exemple de profil de simulation dans laquelle la compétition enzymatique joue un rôle sur la concentration du composé d'intérêt. Ici, le profil de concentration veineux en toluène seul (C_v :NC) et celui en compétition avec le BEX (C_v :C) sont exprimés en mg/L en fonction du temps exprimé en jour.

Figure 2 : Exemple de profil de simulation à forte concentration pour le toluène

De plus, chaque composé est en interaction compétitive binaire avec un autre composé du mélange. Ainsi, dans le cas d'un mélange de 4 composés comme le BTEX, 6 possibilités d'interaction binaire pourraient intervenir. Pour chacun des composés du mélange, soit le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et le m-xylène, le GT remarque que les courbes d'exposition des composés considérés individuellement et en mélange se superposent aux VTR de l'Anses selon un scénario de simulation continu (Figure 3 a-d) pour des concentrations égales à leur VTR respective. Ces observations suggèrent qu'aucun des composés du mélange n'influence significativement la concentration veineuse des autres composés au niveau de la cinétique de biotransformation ou d'élimination du composé parent aux doses considérées du mélange.



Cv représente les concentrations veineuses en (mg/L) en fonction du temps (jour).

Figure 3 : Profil cinétique continue du benzène (a), du toluène (b), de l'éthylbenzène (c) et du m-xylène (d) en exposition unique (CVx :NC) et en mélange (CVx;C)

Données toxicodynamiques

Aucune étude comparative des effets neurotoxiques induits par une exposition (sub)chronique par inhalation au mélange BTEX et ceux induits par chacun des constituants qui le composent n'a été identifiée.

Dans son rapport 2004, l'ATSDR avait identifié des données humaines et animales investiguant les effets sur le système nerveux de quelques mélanges binaires notamment benzène/toluène, toluène/xylènes et éthylbenzène/xylènes. Parmi les 12 études identifiées, 11 étaient relatives à une exposition aiguë. Lors d'exposition aiguë à des concentrations inférieures à 1000 ppm, 9 études n'ont pas mis en évidence que les constituants de mélanges binaires puissent agir conjointement sur le système nerveux selon un mode dérogeant à l'additivité. Pour des concentrations supérieures, deux études ont toutefois suggéré des effets supra-additifs. Ainsi, les niveaux de dopamine étaient plus élevés dans le cerveau antérieur de rats exposés 6 heures/jour pendant 3 jours à 2000 ppm d'un mélange d'éthylbenzène et de xylènes qu'à l'un ou l'autre des produits chimiques individuellement à la même concentration (Andersson, 1981 cité dans ATSDR, 2004). Les effets induits sur les performances au test de rotarod chez des rats exposés pendant 4 heures à un mélange de toluène et de m-xylène (1050 à 4700 ppm au total) étaient environ 1,5 fois plus puissants que ceux induits par des concentrations similaires de toluène seul ou de xylène seul (Korsak *et al.*, 1988 cité dans ATSDR, 2004).

La seule publication disponible pour une exposition subchronique est une étude chez des rats Wistar mâles exposés (6 heures/jour, 5 jours/semaine) à 0, 100 ppm de toluène, 100 ppm de m-xylène ou 50 ppm de toluène + 50 ppm de m-xylène pendant 6 mois, ou à 0, 1000 ppm de toluène, 1000 ppm de m-xylène ou 500 ppm de toluène + 500 ppm m-xylène pendant 3 mois. Les performances au test du rotarod ont été testées à intervalles mensuels tout au long de l'étude, et l'activité motrice spontanée a été mesurée à la fin des périodes d'exposition de 3 et 6 mois. Les résultats obtenus ont montré une différence statistiquement significative entre les

groupes exposés et les contrôles. En revanche, les effets induits par l'action conjointe du toluène et du m-xylène n'étaient pas statistiquement différents de ceux induits par chaque constituant n'indiquant pas d'action supra additive (Korsak *et al.*, 1992 cité dans ATSDR, 2004).

Sur la base des données disponibles, une interaction différente de l'additivité n'est pas suspectée aux concentrations considérées.

3.2.3.1.1.1 Cas n° 1 : l'hypothèse d'additivité applicable

L'hypothèse d'additivité étant retenue pour l'effet commun considéré, le GT a testé, en accord avec l'arbre décisionnel proposé (Figure 1), la faisabilité des approches suivantes en fonction des données disponibles pour chacun des constituants:

- $RPF_{\text{neurotoxicité}}$,
- $PoD_{\text{neurotoxicité}}$,
- $HI_{\text{neurotoxicité}}$.

3.2.3.1.1.1.1 $RPF_{\text{neurotoxicité}}$

Cette approche nécessite de disposer d'études réalisées selon des protocoles identiques pour tous les constituants pour un effet néfaste commun.

Une étude comparative des effets du benzène et des alkylbenzènes (dont T, E, m-X) sur une batterie d'observations fonctionnelles chez des souris exposées à des concentrations de 2000 à 8000 ppm pendant 20 minutes est relatée dans le rapport de l'ATSDR (Tegeris et Balster, 1994 cité dans ATSDR, 2004). Une étude récente a porté sur une étude comparative d'effets neurocomportementaux chez le rat d'une exposition aux benzène, toluène, m-xylène ou cyclohexane à des concentrations de 2000 à 8000 ppm pendant 30 minutes (Armenta-Reséndiz *et al.*, 2019). L'éthylbenzène n'a cependant pas été investigué dans cette étude. De plus, dans les deux études identifiées, seule une exposition aiguë a été testée.

En l'absence de donnée disponible appropriée, la dérivation de $RPF_{\text{neurotoxicité}}$ pour une exposition (sub)chronique ne peut être réalisée.

3.2.3.1.1.1.2 $PoD_{\text{neurotoxicité}}$

Cette approche nécessite de disposer de données similaires (même espèce, même durée d'exposition, *etc.*) pour un effet commun et pour tous les congénères du mélange.

Comme mentionné précédemment, aucune étude de neurotoxicité comparative portant sur tous les congénères BTEX pour une exposition (sub)chronique n'a été identifiée.

L'effet critique retenu pour la VTR chronique par inhalation des xylènes est une altération de la coordination motrice, telle que mesurée dans le test du rotarod, dans une étude subchronique chez des rats (Korsak *et al.*, 1994). Sur la base des rapports disponibles et des recherches bibliographiques réalisées, seule une étude investiguant les effets sur les performances au test du rotarod d'une exposition à 100 ppm de toluène pendant 6 mois ou 1000 ppm pendant 3 mois a été identifiée (Korsak *et al.*, 1992). Aucune étude n'est disponible pour le benzène et l'éthylbenzène.

En l'absence de donnée disponible appropriée, la dérivation de $PoD_{\text{neurotoxicité}}$ pour une exposition (sub)chronique est impossible.

3.2.3.1.1.3 $HI_{\text{neurotoxicité}}$

Cette approche consiste à sommer les quotients de danger (QD) de chaque constituant du mélange dès lors qu'on dispose pour chaque constituant de valeur toxicologique fondée sur l'effet commun identifié (VTM_{EC}).

Les VTR du toluène (Anses, 2017a) et des xylènes (Anses, 2020) pour une exposition chronique par inhalation sont toutes les deux fondées sur des effets neurotoxiques.

Tableau 2 : VTR chronique par inhalation du toluène et des xylènes

Substance	Organisme	Effet critique (étude clé)	PoD	UF	VTR
Toluène	Anses (2017b)	Effets neurologiques (troubles de la vision des couleurs) Zavalic <i>et al.</i> , 1998 : étude épidémiologique chez des travailleurs	NOAEC = 123 mg.m ⁻³ (32 ppm) <u>Ajustement temporel</u> (utilisation d'un modèle PBPK ; équivalence de dose ajustée sur la vie entière) : NOAEC _{ADJ} = 96 mg.m ⁻³ (25 ppm)	5 UF _H = 5	19 mg.m ⁻³ (5 ppm)
					Niveau de confiance fort
Xylènes	US EPA (2003)	Effets neurologiques (altération de la coordination motrice - test du rotarod) Korsak <i>et al.</i> , 1994 : étude de 90 jours chez le rat par inhalation corps entier, 6h/j, 5j/sem	NOAEC = 217 mg.m ⁻³ (50 ppm) <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 38,75 mg.m ⁻³ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{ADJ HEC} = 38,75 mg.m ⁻³	300 UF _{A-TD} = 3 UF _H = 10 UF _S = 3 UF _D = 3	0,1 mg.m ⁻³ (0,03 ppm)
					Niveau de confiance moyen/faible

En revanche, les VTR du benzène et l'éthylbenzène n'étant pas établies sur des effets neurotoxiques, le GT a étudié la faisabilité de construire des $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ ad hoc pour ces deux substances à partir des données disponibles.

Comme rapporté ci-dessous, aucune des études par inhalation évaluées n'a été jugée suffisamment robuste pour élaborer une $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ pour le benzène et l'éthylbenzène. Le GT a, en conséquence, envisagé la possibilité **d'une transposition voie à voie** si des études de neurotoxicité par voie orale s'avéraient de qualité appropriée.

Construction d'une VTM pour des effets neurotoxiques du benzène

Les données ci-après traitant de la neurotoxicité du benzène sont rapportées sur la base des analyses de la littérature effectuées dans les rapports ATSDR (2004, 2007), Anses (2014) et ont été complétées par une mise à jour bibliographique réalisée dans le cadre de la révision de la VTR du benzène et apportée en annexe 6.

Synthèse des données de neurotoxicité

Voie inhalée

- **Neurotoxicité aiguë**

Données chez l'Homme

Dans les formes légères d'intoxication, une excitation puis des troubles de la parole, des céphalées, des sensations vertigineuses, une somnolence, des nausées, des paresthésies dans les mains et les pieds et de la fatigue sont rapportés (Lauwerys, 1999). Ces symptômes sont généralement observés pour des concentrations comprises entre 300 et 3000 ppm (975 et 9750 mg.m⁻³) (Cronin, 1924 ; Flury, 1928 ; Midzenski, 1992).

Plus précisément, l'inhalation de 50 à 100 ppm (162 à 325 mg.m⁻³) de benzène pendant 30 minutes a entraîné une fatigue et des céphalées ; 250 à 500 ppm (812 à 1625 mg.m⁻³) ont été responsables de sensations vertigineuses, céphalées, sensations de malaise et nausées (Hathaway *et al.*, 1991). Lors d'expositions professionnelles (15 travailleurs de sexe masculin) à des vapeurs de benzène (supérieures à 60 ppm, soit à 195 mg.m⁻³) pendant 3 semaines, des sensations d'irritation des muqueuses et de la peau, ainsi qu'une dyspnée, ont été rapportées (Midzenski *et al.*, 1992).

À titre indicatif, les chiffres suivants sont donnés par l'INRS (2019) pour les symptômes neurologiques suivant une exposition aiguë au benzène : pas d'effet à 25 ppm (81 mg.m⁻³), céphalée et asthénie de 50 à 100 ppm (162 à 325 mg.m⁻³), symptômes plus accentués à 500 ppm (1625 mg.m⁻³), tolérance seulement pendant 30 à 60 minutes à 3000 ppm (9720 mg.m⁻³), mort en 5 à 15 minutes à 20000 ppm (64980 mg.m⁻³).

D'Andrea *et al.* (2013, 2014, 2016, 2017, 2018) ont conduit une série d'études transversales chez les adultes et les enfants (< 17 ans) suite à l'explosion d'une raffinerie au Texas, USA en 2010 libérant dans l'air 200 tonnes de produits chimiques dont 6,8 tonnes de benzène durant 40 jours. Parmi les autres substances chimiques libérées dans l'air figuraient le toluène, le sulfure d'hydrogène, des oxydes d'azote et le monoxyde de carbone. Différents symptômes ont été évalués par questionnaire dont les symptômes neurologiques suivants : céphalées, difficultés mnésiques, sensations vertigineuses, acouphènes, démarche instable et convulsions. Des analyses biologiques ont été conduites pour la mesure de paramètres hématologiques. Chez les enfants, la première étude a porté sur 157 enfants (âge moyen = 15,4 ans) résidants à proximité de la raffinerie et 155 enfants témoins non exposés (moyenne = 11,8 ans) (D'Andrea *et al.*, 2014). Quarante-huit pour cent (48%) des enfants exposés ont déclaré des symptômes neurologiques (instabilité à la marche, difficultés mnésiques, céphalées).

Chez les adultes, la dernière étude publiée (D'Andrea *et al.*, 2018) porte sur 2162 individus âgés de 18 ans et plus. Plus de 11368 symptômes ont été déclarés par les participants : les symptômes neurologiques sont les plus fréquemment rapportés (174%), suivi des symptômes

respiratoires (115%), cardiaques (28%), dermatologiques (28%), gastro-intestinaux (27%) et oculaires (21%). Des mesures de phénol urinaire, comme biomarqueur de l'exposition au benzène ont également été réalisées. Les auteurs indiquent que les niveaux mesurés étaient élevés, mais aucune comparaison avec un groupe témoin n'était réalisée.

Les principales limites de cette série d'études sont l'absence de données de mesures du benzène dans l'air avant, pendant ou après l'accident, l'absence de prise en compte des co-expositions du fait de l'accident et des facteurs de risque habituels des anomalies biologiques rapportés, ainsi que le caractère subjectif des plaintes collectées.

Données chez l'animal

Une exposition aiguë au benzène par inhalation, induit des effets neurologiques : une diminution de 30% de l'activité électrique cérébrale est rapportée chez le rat Wistar mâle exposé 4h à 929 ppm (3000 mg.m⁻³) et chez la souris H femelle exposée 2 heures à 856 ppm (2800 mg.m⁻³) de benzène (Frantik *et al.*, 1994). Chez le lapin, le benzène a induit une diminution des réflexes involontaires et le déclenchement d'une narcose, après 3 minutes et 42 secondes d'une exposition aiguë à 45000 ppm (Carpenter, 1944).

Après une exposition de 6 heures corps entier, des souris C57BL/6 ont montré une diminution de 90% de la force de préhension des membres postérieurs à partir de 1000 ppm (3200 mg.m⁻³) de benzène, ainsi que des tremblements à 3000 ppm (9700 mg.m⁻³) qui ont diminué 30 minutes après l'arrêt de l'exposition (Dempster *et al.*, 1984).

Dans une étude récente, les effets neurocomportementaux chez le rat mâle Wistar ont été étudiés suite à une exposition à 0, 2000, 4000 ou 8000 ppm (6500, 13000, 26000 mg.m⁻³) de benzène pendant 30 minutes (Armenta-Resendiz *et al.*, 2019). Les différents tests ont mis en évidence des effets de type anxiolytique, une altération de l'apprentissage et un effet antalgique. Ces effets étaient doses-dépendants.

- **Neurotoxicité subchronique et chronique**

Données chez l'Homme

Des études relativement anciennes ont montré que l'exposition chronique à de fortes concentrations de benzène pouvait induire des effets neurotoxiques.

Sur 8 patients ayant été exposés à des solutions contenant entre 9 et 88% de benzène au travers de leur activité professionnelle, 4 ont développé une neuropathie périphérique. La concentration en benzène dans l'atmosphère de travail était inférieure ou égale à 210 ppm (682,5 mg.m⁻³) (Baslo et Asksoy, 1982). Kahn et Muzyka ont également étudié les effets liés à une exposition chronique au benzène et au toluène chez 121 travailleurs exposés sur une période de 2 à 9 ans (Kahn et Muzyka, 1973). La concentration de benzène dans le milieu de travail, entre 1962 et 1965, se situait entre 6 et 15,6 ppm (20 à 50 mg.m⁻³), alors que la concentration de toluène n'excédait pas 5 mg.m⁻³. Soixante-quatorze de ces travailleurs se sont plaints de céphalées fréquentes (souvent à la fin de la journée de travail), de fatigue, de troubles du sommeil et de difficultés mnésiques. Les limites de cette étude résident dans le fait que les travailleurs ont été exposés au benzène et au toluène et que les concentrations précises d'exposition au benzène ainsi que les durées d'exposition sont inconnues.

Lee *et al.* ont rapporté une association significative ($p < 0,05$) entre la prévalence de la dyschromatopsie acquise de l'œil gauche (mais pas de l'œil droit) et l'augmentation de

l'exposition au benzène (concentrations moyennes variant de 0,27 à 2,43 ppm-années) chez 736 travailleurs d'une industrie pétrochimique, comparativement à un groupe de 172 témoins non exposés au benzène (Lee *et al.*, 2007). La prévalence de la dyschromatopsie était significativement corrélée à l'âge et la durée d'emploi. Cependant, les potentielles co-expositions professionnelles n'ont pas été prises en considération. En outre, la temporalité de l'administration du test de Lanthony par rapport à la dernière exposition n'est pas renseignée. Cette limite méthodologique ne permet pas d'exclure des effets aigus de l'exposition à des solvants organiques. En conséquence, les résultats présentés ne permettent pas d'évaluation des effets neurotoxiques éventuels d'une exposition chronique.

Des modifications de la fonction cognitive et des régions cérébrales connexes ont été documentées chez une patiente souffrant d'une intoxication chronique au benzène (Hu, 2020). Une amélioration significative de l'état de santé de la patiente a été observé 3 mois après son hospitalisation.

Données chez l'animal

Evans *et al.* ont évalué le comportement de deux souches de souris (CD-1 et C57BL/6) exposées à 0, 300 ou 900 ppm (0, 972 ou 2916 mg.m⁻³) de benzène 6 h/j pendant 5 jours. L'exposition a été répétée après 2 semaines sans exposition. Une augmentation de l'occurrence de prise de nourriture, de toilette et une diminution des temps de repos et de sommeil ont été observées chez les deux souches de souris. Cette augmentation était plus importante à 300 ppm, ce qui suggère un effet narcoleptique du benzène à de plus fortes concentrations (Evans *et al.*, 1981).

Dempster *et al.* ont rapporté, par ailleurs, une augmentation du comportement de léchage de lait sucré chez des souris adultes C57BL6 exposées à 0, 100 ppm et 300 ppm (0, 324 ou 972 mg.m⁻³) 6 h/j pendant 5 jours (Dempster *et al.*, 1984). La pertinence de ce paramètre pour évaluer la neurotoxicité du benzène semble cependant questionnable.

Chez la souris mâle Kunming, l'exposition au benzène, 2 h/jour, 6 jours/ semaine pendant 30 jours à une concentration de 0, 0,78, 3,13 et 12,52 ppm (0, 2,53, 10 et 41 mg.m⁻³) a induit une augmentation significative de la force musculaire dès 0,78 ppm (2,53 mg.m⁻³), puis une diminution de ces effets aux concentrations supérieures. Le pourcentage de réponse rapide (temps nécessaire pour atteindre la zone de sécurité après déposition sur une plaque induisant un choc électrique inférieur à 3 secondes) a été significativement augmenté à 0,78 ppm et diminué aux concentrations supérieures. Dans cette étude, il n'a pas été noté d'effet statistiquement significatif sur l'activité locomotrice. Une diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) cérébrale a été observée à la plus forte concentration sans que la signification physiopathologique puisse être déterminée. L'activité de l'AChE sanguine n'a quant à elle pas été modifiée (Li *et al.*, 1992).

Cette étude avait été retenue initialement par l'ATSR en 1997 pour élaborer un MRL (Minimal Risk Level) subchronique par inhalation. Toutefois, dans son évaluation de 2007, l'ATSDR a indiqué que les niveaux d'exposition utilisés par Li *et al.* (1992) étaient plus de 10 fois inférieurs à ceux provoquant des signes de neurotoxicité dans d'autres études animales et a suspecté que les niveaux d'exposition réels dans l'étude de Li *et al.* puissent avoir été plus élevés qu'indiqués. L'ATSDR a conclu que les incertitudes concernant les niveaux d'exposition réels limitaient son utilisation aux fins de l'évaluation des risques. Le GT souligne également les faiblesses de l'étude de Li *et al.* (1992) incluant des analyses statistiques non appropriées et le contrôle des concentrations d'exposition uniquement lors des trois premiers jours.

En l'absence d'étude par inhalation suffisamment robuste, le GT a exploré les données subchroniques et chroniques par voie orale disponibles pouvant indiquer des effets neurotoxiques afin de construire, après une transposition voie à voie, une $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ chronique par inhalation.

Voie orale

- **Neurotoxicité aiguë**

Données chez l'Homme

Chez l'Homme, des atteintes du SNC (euphorie, sensations vertigineuses, incoordination et perte de conscience) ont été signalées à la suite d'une ingestion unique de benzène à 125 mg.kg^{-1} (Thienes et Haley, 1972).

Données chez l'animal

Des rats Sprague-Dawley ayant reçu une dose orale unique de 88 mg.kg^{-1} de benzène ont présenté une légère dépression du SNC. À $1870 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ des tremblements ont été observés (Cornish et Ryan, 1965).

Une modification des profils neurochimiques (modification des concentrations de différents neurotransmetteurs dans plusieurs régions du cerveau) a été observée chez des rats Sprague-Dawley, 2 heures après l'administration unique par gavage de $950 \text{ mg.kg pc}^{-1}$ de benzène (Kanada *et al.*, 1994).

- **Neurotoxicité subchronique et chronique**

Données chez l'Homme

Aucune donnée n'a été identifiée.

Données chez l'animal

L'exposition orale au benzène a modifié la synthèse et le catabolisme des neurotransmetteurs monoaminés chez les souris CD-1 (Hsieh *et al.*, 1988). Chez des souris ayant reçu $8, 40$ ou $180 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de benzène pendant 4 semaines dans l'eau de boisson, les concentrations des catécholamines et de la sérotonine, ainsi que celles de leurs métabolites ont été modifiées dès $8 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ dans plusieurs régions du cerveau. Des résultats similaires ont été observés à $31,5\text{-}40 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$, accompagnés d'une libération de la corticostérone dans le sang (Hsieh *et al.*, 1990, 1991). En l'absence d'investigations histopathologiques ou de tests comportementaux corrélés, le caractère néfaste des effets observés sur les neurotransmetteurs ne peut être établi.

Chez des souris femelles B6C3F1 exposées à $0, 12, 195$ ou $350 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de benzène dans l'eau de boisson pendant 30 jours, une diminution du poids du cerveau à $350 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ est notée (Shell, 1992 cité dans ATSDR, 2007).

Par ailleurs, l'examen histologique du cerveau n'a révélé aucune lésion liée au traitement après un traitement par gavage jusqu'à $600 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$, 5 jours/semaine pendant 120 jours chez des rats Fischer 344 (mâles et femelles) et des souris B6C3F1 (NTP, 1986). Dans la même étude, les souris B6C3F1 ont présenté des tremblements par intermittence à partir de $400 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$, qui étaient plus prononcés chez les mâles au cours des 3 dernières semaines de l'étude.

Aucun effet indésirable basé sur l'examen histologique³ du cerveau ou de la moelle épinière n'a été observé chez des rats Fischer 344 et des souris B6C3F1 après une exposition orale chronique à 50-200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (rats mâles) ou 25-100 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (rats femelles et souris mâles et femelles) (NTP, 1986).

Une étude de neurotoxicité de 28 jours a été réalisée chez des rats mâles Sprague-Dawley (10 animaux/dose), traités par gavage aux doses de 0 et 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de benzène. Les résultats obtenus ont montré des effets histopathologiques cérébelleux corrélés à une altération de la coordination motrice et une diminution de l'activité locomotrice. Sur la base des résultats présentés, une augmentation de l'état d'anxiété ne peut être exclue (Rafati *et al.*, 2015). Dans cette étude, les troubles du comportement ont été évalués par :

- le test du rotarod. Une diminution significative ($p = 0,01$) du temps de latence à la chute à vitesse constante (à partir de 24 tours/minute), ainsi qu'à vitesse croissante de rotation (de 5 à 45 tours/minutes pendant 300 secondes), a été observée chez les animaux traités ;
- le test du labyrinthe surélevé. Chez les rats traités au benzène, il a été noté une baisse de 66% du temps passé dans les bras ouverts (temps passé dans les bras ouverts/300 sec) par rapport au groupe témoin ($p = 0,01$), ainsi qu'une diminution de 56% du nombre d'entrées dans les bras ouverts (entrées dans les bras ouverts/entrées dans les bras ouverts et fermés) par rapport au groupe témoin ($p = 0,01$). Une baisse de 31% de l'activité motrice générale des rats traités au benzène a également été observée ($p = 0,01$).

Le cervelet de 6 animaux par dose a fait l'objet d'une analyse stéréologique afin d'en estimer le volume et le nombre de cellules. Les animaux exposés au benzène présentaient une diminution de 34% ($p = 0,003$) du volume total du cervelet, de l'épaisseur de son cortex et de la médullaire (substance blanche) par rapport aux animaux non exposés.

De plus, le comptage des cellules de Purkinje, de Bergmann, de Golgi, des cellules granulaires, des neurones et des cellules gliales a révélé une baisse de 52%, 76%, 51%, 62%, 58% et 50%, respectivement par rapport aux animaux non exposés ($p = 0,003$).

Dans cette étude, la toxicité générale n'a pas été décrite. En effet, les auteurs ont estimé une forte toxicité générale liée au benzène à la dose de 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, sur la base d'études antérieures de toxicité à dose répétée. Celles-ci montraient qu'à 800 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, les animaux ne présentaient pas de signe de souffrance grave ou de retard de croissance marqué et que cette dose n'entraînait pas de mortalité. Ceci est corroboré par l'étude du NTP de 120 jours chez des rats Fischer 344 dans laquelle le taux de mortalité n'a pas été modifié (dose maximale testée de 600 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹) et les effets observés à partir de 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ consistaient en une diminution du poids corporel (14-22%) et une leucopénie.

À partir de cette étude, un LOAEL de 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ peut être retenu pour les effets neurotoxiques chez le rat exposé au benzène par voie orale.

³ Néanmoins, il convient de rappeler que les analyses histopathologiques ne sont pas assez sensibles et ne fournissent des informations que sur des cas d'extrême de neurotoxicité générant des lésions cérébrales ou une diminution du poids du cerveau. Des modifications comportementales peuvent avoir lieu à des doses moins élevées que celles générant des lésions cérébrales, *via* notamment des changements de l'activité des neurones et des cellules gliales ou encore de l'intégrité de la barrière hématoencéphalique.

Construction de la VTM_{neurotoxicité} par voie orale

Choix de l'étude clé et du PoD

En l'absence d'étude chronique dédiée à la neurotoxicité par voie orale, l'étude clé retenue est l'étude de neurotoxicité de 28 jours par gavage à 0 et 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ de benzène réalisée chez de rats mâles (Rafati *et al.*, 2015). De fait, le PoD retenu est un LOEL_{neurotoxicité}, dose minimale entraînant un effet néfaste observé sur le système nerveux de 200 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Ajustement allométrique

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) est calculée à l'aide de l'équation suivante⁴ :

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids Homme}} \right)^{0,25}$$

Le poids moyen des rats dans cette étude est de 200 g. Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg (Anses, 2017a).

Soit une dose critique équivalente humaine de :

$$\text{LOEL}_{\text{HED-neurotoxicité}} = 200 \times (0,2/70)^{0,25} = 46,2 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Choix de facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTM_{neurotoxicité} à partir d'un LOEL_{HED-neurotoxicité} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2017a) :

- Variabilité inter-espèces (UF_{A-TD}) : 2,5

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 10

La durée de l'étude clé étant de 28 jours, un facteur de 10 est proposé pour tenir compte de la transposition en une VTM chronique.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOEL ou d'un NOEL (UF_{B/L}) : 10

Pour tenir compte de l'utilisation d'un LOEL et du fait qu'une seule étude est disponible avec une seule dose testée, un facteur de 10 est retenu.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Le profil toxicologique du benzène est considéré comme suffisamment documenté.

Un facteur d'incertitude global de 2500 est donc retenu.

⁴ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

Proposition de la $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ pour la voie orale

$$VTM_{\text{neurotoxicité-voie orale}} = 0,01848 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^1 = 18,48 \text{ }\mu\text{g.kg pc}^{-1}.\text{j}^1$$

Construction de la $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ par voie respiratoire

En l'absence d'étude par voie respiratoire, une transposition voie à voie est proposée pour construire une $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ chronique par voie respiratoire à partir de la $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ chronique par voie orale.

Les différences entre les voies sont déterminées par leur pourcentage d'absorption dans la circulation systémique respectif. Aux regard des données disponibles, l'absorption par voie orale (Abs_{Orale}) peut être considérée comme totale (100%) chez le rat (Sabourin *et al.*, 1987 ; ATSDR, 2007 ; INRS, 2019). L'absorption par voie respiratoire (Abs_{Respi}) est moindre. Cependant, la valeur par défaut de 100%, représentant un pire cas, a été retenue (Anses, 2017a).

Les données sont converties en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (Anses, 2017a).

$$VTM_{\text{neurotoxicité-voie respiratoire}} = VTM_{\text{neurotoxicité-voie orale}} \times Abs_{\text{Orale}}/Abs_{\text{Respi}} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3.\text{j}^1$$
$$VTM_{\text{neurotoxicité-voie respiratoire}} = 65 \text{ }\mu\text{g.m}^{-3}$$

Construction d'une VTM pour des effets neurotoxiques de l'éthylbenzène

Les données ci-après traitant de la neurotoxicité de l'éthylbenzène sont rapportées sur la base des analyses de la littérature effectuées dans le rapport de l'Anses (2016) et d'une mise à jour bibliographiques sur les bases de données Scopus et Pubmed jusqu'en septembre 2021 (annexe 4).

Synthèse des données de neurotoxicité

Voie inhalée

- **Neurotoxicité aiguë**

Données chez l'Homme

Aucune étude de neurotoxicité aiguë par voie respiratoire n'a été identifiée dans la littérature.

Données chez l'animal

Des effets neurologiques ont été observés chez l'animal pour une exposition aiguë par inhalation à l'éthylbenzène. Dans l'ensemble, des effets dépressifs sur le SNC sont observés suite à une exposition aiguë à des concentrations élevées d'éthylbenzène, alors qu'une activation du système nerveux moteur apparait pour les doses les plus faibles. L'effet le plus préoccupant pour ce type d'expositions semble être l'ototoxicité, qui se manifeste par une altération du seuil auditif et des atteintes de la morphologie cochléaire. Cependant, si les troubles de la coordination (VTR xylènes) et de la vision (VTR toluène) sont des proxys de l'atteinte du SNC par les solvants organiques dont les BTEX, l'ototoxicité n'est en revanche pas commune à tous les BTEX dépendant notamment de leur encombrement stérique. Elle n'est donc pas décrite ci-après mais cette synthèse est disponible dans le rapport VTR de l'éthylbenzène publié en 2016 (Anses, 2016).

- **Neurotoxicité subchronique et chronique**

Données chez l'Homme

Aucune étude de neurotoxicité subchronique ou chronique par voie respiratoire n'a été identifiée dans la littérature.

Données chez l'animal

Chez les animaux exposés par inhalation à l'éthylbenzène pour des durées subchroniques ou chroniques, les signes généraux de neurotoxicité n'ont pas été observés.

En l'absence d'étude disponible rapportant des effets sur le système nerveux de l'éthylbenzène lors d'exposition subchronique ou chronique par voie inhalée, le GT a choisi de s'orienter vers la possibilité d'utiliser une étude par voie orale pour dériver une VTM pour des effets neurotoxiques par voie inhalée.

Voie orale

L'analyse de la littérature a permis d'identifier une étude traitant des effets neurotoxiques de l'éthylbenzène par voie orale et possiblement utilisable pour construire une valeur toxicologique.

- **Neurotoxicité aiguë**

Données chez l'Homme

Aucune étude n'a été recensée concernant les effets sanitaires liés à une exposition aiguë de l'Homme par voie orale à l'éthylbenzène.

Données chez l'animal

Aucune étude n'a été recensée concernant des effets neurotoxiques généraux en lien avec une exposition aiguë chez l'animal à l'éthylbenzène seul.

- **Neurotoxicité subchronique et chronique**

Données chez l'Homme

Aucune étude n'a été recensée concernant des effets neurotoxiques généraux en lien avec une exposition subchronique ou chronique de l'Homme à l'éthylbenzène seul.

Données chez l'animal

Li *et al.* (2010) ont exploré les effets neurologiques de l'exposition à l'éthylbenzène chez l'animal. Les auteurs ont montré que l'exposition par gavage oral à des doses allant jusqu'à 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, pendant 90 jours, n'avait induit aucune anomalie neurologique chez le rat en ce qui concerne l'activité motrice, les fonctions autonomes, les réponses sensorimotrices, les réactions, la démarche, ni quelque manifestation clinique connexe que ce soit. Les effets observés sont :

- des effets sur le gain de poids. Une diminution significative chez les mâles a été observée aux doses 250 et 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ au cours de la première semaine (13,9% et 14,8%, respectivement) et entre J78-85 (-41,8% et -54,1%, respectivement) ;
- des effets hépatiques : Chez les rats mâles, une diminution du poids relatif du foie aux doses de 250 et 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, de respectivement 13,7% (p < 0,05) et 28,5% (p < 0,001). Chez les rats femelles, une diminution du poids relatif du foie de 22,7% (p < 0,001) uniquement à la plus forte dose testée de 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ;
- des effets rénaux. Chez les rats mâles, une diminution du poids relatif des reins aux doses de 250 et 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, de respectivement 22,2% (p < 0,001) et 30% (p < 0,001). Cet effet n'a pas été observé chez les rats femelles aux doses testées ;
- des effets cérébraux. Chez les rats mâles, une diminution du poids relatif du cerveau uniquement à la plus forte dose testée de 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹, avec -12% (p < 0,001). Chez les rats femelles, aucune diminution du poids absolu du cerveau n'a été observée aux doses testées.

Concernant le test d'activité locomotrice effectué, aucune différence d'activité motrice cumulée n'a été observée chez les mâles et les femelles quel que soit le groupe de traitement considéré. Une augmentation significative de l'activité au cours de l'heure du test a été observée aux

doses 250 et 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ à la semaine 4 seulement, sans relation dose-effet. Les auteurs considèrent que ces effets ne sont pas liés au traitement.

Le GT considère qu'il est difficile de considérer les différences significatives observées seulement à la semaine 4 chez les femelles comme un effet délétère.

Un NOAEL de 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ a été retenu pour les effets neurotoxiques chez les rats mâles et femelles exposés à l'éthylbenzène.

Par ailleurs, un NOAEL pour la toxicité générale à 50 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ et un LOAEL de 250 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ basés sur une réduction du poids relatif du foie et des reins chez les rats mâles et les femelles peuvent être retenus sur la base de cette étude.

Construction de la VTM_{neurotoxicité} par voie orale

Choix de l'étude clé et de la dose critique

En l'absence d'étude de toxicité subchronique et chronique par voie respiratoire disponible pour l'éthylbenzène, l'étude clé retenue est une étude de neurotoxicité par voie orale (gavage, deux fois par jour) durant 90 jours, chez des rats mâles et femelles (CrI:CD(SD)), traités aux doses de 0, 50, 250 et 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ (Li *et al.*, 2010).

Ajustement allométrique

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèce, un ajustement allométrique a été réalisé. Une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) est calculée à l'aide de l'équation suivante⁵ :

$$\text{Dose équivalente Homme} = \text{Dose animal} \times \left(\frac{\text{Poids animal}}{\text{Poids homme}} \right)^{0,25}$$

Le poids moyen des rats est de 661g pour les mâles et de 339g pour les femelles. Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique de,

- Pour les mâles, un NOAEL_{HED} = 500 x (0,661/70)^{0,25} = 156 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹
- Pour les femelles, un NOAEL_{HED} = 500 x (0,339/70)^{0,25} = 131 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹

Le PoD retenu pour le calcul de la VTR_{neurotoxicité} est le NOAEL_{HED} de 131 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Choix de facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTM_{neurotoxicité} à partir du NOAEL_{HED-neurotoxicité} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2017a) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5

⁵ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

- Variabilité inter-individuelle (UF_H) : 10

Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

La durée de l'étude clé étant de 90 jours, un facteur de 3 est proposé pour tenir compte de la transposition en une VTR chronique.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL/C ou d'un NOAEL/C ($UF_{B/L}$) : 1

Pour tenir compte de l'utilisation d'un NOAEL, un facteur de 1 est proposé.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Un facteur d'incertitude global de 75 est donc utilisé pour la construction de la VTR

Proposition de VTM pour la voie orale

$$\text{VTM}_{\text{neurotoxicité-voie orale}} = \text{NOAEL}_{\text{HED neurotoxicité}} / 75 = 131 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1} / 75 = 1,74 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$$

Construction de la VTM par voie respiratoire pour un effet neurotoxique

En l'absence d'étude par voie respiratoire, une transposition voie à voie est proposée pour construire une $\text{VTM}_{\text{neurotoxicité}}$ chronique par voie respiratoire à partir de la $\text{VTM}_{\text{neurotoxicité}}$ voie orale. En l'absence de données sur la toxicocinétique de la substance, ce calcul est basé sur une hypothèse, par défaut, d'absorption de 100% pour la voie orale et de 100% pour la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). Les données sont converties en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (Anses, 2017a).

$$\text{VTM}_{\text{neurotoxicité-voie respiratoire}} = \text{VTM}_{\text{neurotoxicité-voie orale}} \times 70 \text{ kg} / 20 \text{ m}^3.\text{j}^{-1} = 6 \text{ mg.m}^{-3}$$

Le niveau de confiance d'une VTM construite par transposition voie à voie est considéré comme faible.

Les $\text{VTM}_{\text{neurotoxicité}}$ par inhalation élaborées par le GT pour le benzène et l'éthylbenzène sont résumées dans les tableaux ci-dessous.

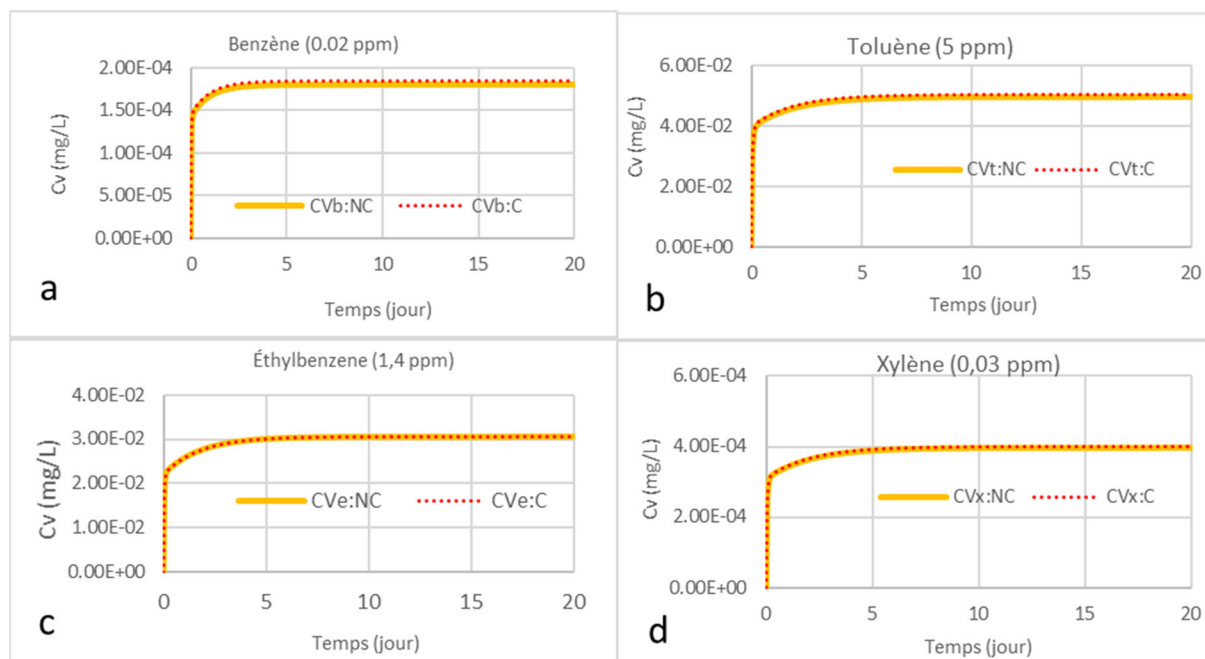
Tableau 3 : $\text{VTM}_{\text{neurotoxicité}}$ par voie orale et respiratoire pour le benzène

Voie d'exposition	Effet critique (étude clé)	Dose critique	UF	$\text{VTM}_{\text{neurotoxicité}}$
Voie orale	Effets neurologiques (diminution de la coordination et de l'activité motrice)	$\text{LOAEL}_{\text{neurotoxicité}} = 200 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ <u>Ajustement allométrique:</u> $\text{LOAEL}_{\text{HED-neurotoxicité}} = 46,2 \text{ mg.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$	2500 $\text{UF}_{\text{A-TD}} = 2,5$ $\text{UF}_{\text{H}} = 10$ $\text{UF}_{\text{S}} = 10$ $\text{UF}_{\text{B/L}} = 10$ $\text{UF}_{\text{D}} = 1$	$\text{VTM}_{\text{neurotoxicité}} = 18,5 \text{ } \mu\text{g.kg pc}^{-1}.\text{j}^{-1}$ Niveau de confiance faible
Voie respiratoire	Rafati <i>et al.</i> , 2015 : étude de 28 jours chez le rat par gavage	<u>Transposition voie à voie</u> $\text{VTM}_{\text{neurotoxicité-voie respiratoire}} = \text{VTM}_{\text{neurotoxicité-voie orale}} \times 70 \text{ kg} / 20 \text{ m}^3.\text{j}^{-1}$	Non nécessaire	$\text{VTM}_{\text{neurotoxicité}} = 65 \text{ } \mu\text{g.m}^{-3}$ (0,02 ppm) Niveau de confiance faible

Tableau 4 : VTM_{neurotoxicité} par voie orale et respiratoire pour l'éthylbenzène

Voie d'exposition	Effet critique (étude clé)	Dose critique	UF	VTM _{neurotoxicité}
Voie orale	Effet neurologique (test de motricité) Li et al., 2010 : étude de 90 jours chez le rats par gavage	NOAEL _{neurotoxicité} = 500 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED-neurotoxicité} = 500 x (0,339/70) ^{0,25} = 131 mg.kg pc ⁻¹ .j ⁻¹	75 UF _{A-TD} =2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTM _{neurotoxicité} 1,74 mg.kg⁻¹ pc.j⁻¹ Niveau de confiance faible
Voie respiratoire		<u>Transposition voie à voie</u> VTM _{neurotoxicité-voie respiratoire} = VTM _{neurotoxicité-voie orale} X 70kg / 20 m ³ .j ⁻¹	Non nécessaire	VTM _{neurotoxicité} 6 mg.m⁻³ (1,4 ppm) Niveau de confiance faible

Afin de vérifier que le concept d'additivité n'est pas remis en cause à des concentrations égales aux VTM_{neurotoxicité}, le GT a réalisé une modélisation à ces niveaux d'exposition, soit 0,02 ppm pour le benzène, 1,4 ppm pour l'éthylbenzène, 5 ppm pour le toluène et 0,03 ppm pour le m-xylène, à l'aide du modèle PBPK présenté ci-dessus (cf. §3.2.3.1.1). Les profils des concentrations sanguines attendues en simulant le mélange BTEX à des concentrations de ces hydrocarbures égales aux VTM_{neurotoxicité} correspondantes et dans une situation où la métabolisation n'est pas en compétition (NC) et est en compétition (C), sont présentés dans la Figure 4. L'analyse des profils suggère une très faible influence sur le profil du benzène, lorsque simulé en mélange, sans effet sur les profils du toluène, de l'éthylbenzène et du m-xylène.



Cv représente les concentrations veineuses en (mg/L) en fonction du temps (jour).

Figure 4 : Profils cinétiques d'exposition continue par inhalation aux doses suivantes correspondant à la $VTM_{\text{neurotoxique}}$, pour le benzène 0,02 ppm (a), le toluène 5 ppm (b), l'éthylbenzène 1,4 ppm (c) et le m-xylène 0,03 ppm (d), en exposition simple (en absence d'interaction métabolique, NC) et en mélange en présence d'un potentiel d'interaction (C) compétitif entre eux.

3.2.3.1.2 Incertitudes, identification des données manquantes

L'absence de donnée comparative des effets neurotoxiques des BTEX pour une exposition (sub)chronique n'a pas permis d'établir de facteur de puissance relative (RPF), approche la plus scientifiquement robuste. La mise en œuvre de telles études permettraient de réduire les incertitudes liées à des disparités de protocole entre les données disponibles pour chaque congénère.

Plusieurs hypothèses quant aux mécanismes d'action sous-tendant les altérations fonctionnelles du SNC des BTEX sont avancées. Cependant, aucun AOP validé n'est disponible à ce jour. Le développement d'AOP dédiés aux effets neurotoxiques permettrait d'établir les différents événements clé en amont des effets néfastes et d'identifier des tests appropriés à la mesure de ces événements clé afin de tester chacun des BTEX et d'établir des RPF pertinents.

Outre les incertitudes inhérentes à l'approche HI, dans le cas présent, l'absence de données appropriées par inhalation a conduit le GT BTEX à mettre en œuvre une transposition voie à voie pour établir les $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ du benzène et de l'éthylbenzène génératrice de nouvelles incertitudes.

3.3 Conclusion pour le mélange BTEX

La Figure 5 présente l'arbre décisionnel appliqué au mélange BTEX.

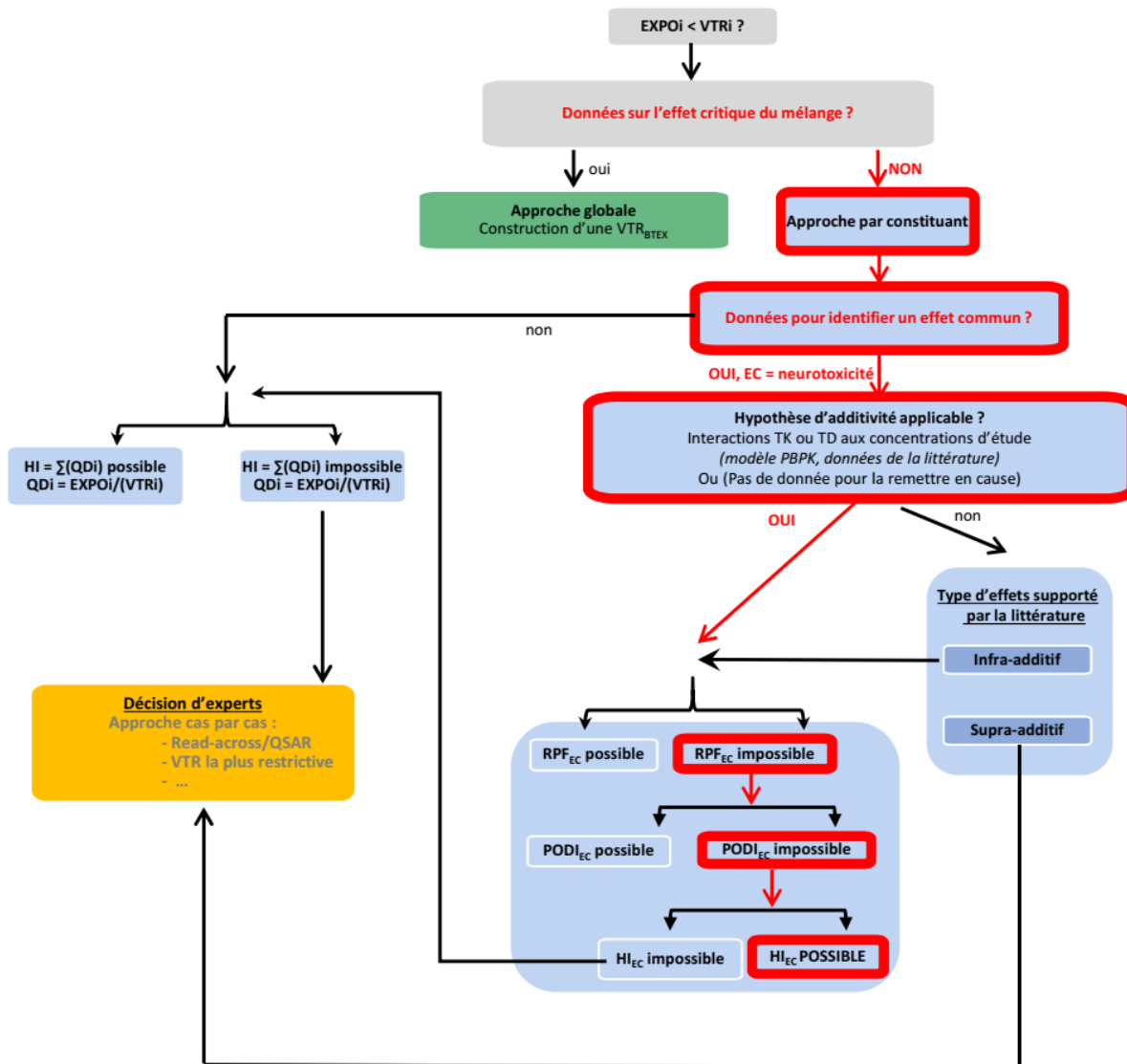


Figure 5 : Arbre décisionnel appliqué au mélange BTEX

4 Conclusions

L'Anses propose une méthode d'élaboration de VTR pour les mélanges de substances. La démarche recommandée est schématisée dans la Figure 1. Seule l'approche globale permet d'établir une VTR pour le mélange considéré ($VTR_{\text{mélange}}$) alors que les approches par constituant sont des démarches permettant une évaluation des risques cumulés résultant de l'exposition combinée aux substances présentes dans le mélange.

La méthode proposée est dépendante des données disponibles sur le mélange lui-même et sur les constituants qui le composent.

Les experts soulignent que la vérification du respect de la $VTR_{\text{mélange}}$ doit toujours être associée à celle du respect des VTR de chacun des composants du mélange.

La faisabilité de cette méthode a été testée sur le mélange BTEX. Au regard des données disponibles sur ce mélange, il n'a pas été possible d'établir une VTR_{BTEX} (selon l'approche globale). Une approche par constituant a donc été suivie en retenant la neurotoxicité comme effet commun. Sur la base de modélisation PBPK et de données toxicologiques, l'hypothèse d'additivité n'a pas été remise en cause. Au regard des données disponibles, des facteurs de puissance relative (RPF) n'ont pu être établis. Le modèle $HI_{\text{neurotoxicité}}$ a ainsi été sélectionné. Des valeurs toxicologiques pour l'effet neurotoxique commun ($VTM_{\text{neurotoxicité}}$) ont été élaborées pour les constituants du mélange dont la VTR n'est pas fondée sur un effet neurotoxique (benzène et éthylbenzène). Les VTR du toluène et des xylènes étant toutes les deux fondées sur la neurotoxicité sont égales aux $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ (Tableau 5).

Tableau 5 : $VTM_{\text{neurotoxicité}}$

Constituants du mélange	$VTM_{\text{neurotoxicité}}$
Benzène	0,065 mg.m⁻³ (0,02 ppm)
Toluène	19 mg.m⁻³ (VTR) (5 ppm)
Éthylbenzène	6 mg.m⁻³ (1,4 ppm)
Xylènes	0,1 mg.m⁻³ (VTR) (0,03 ppm)

Les valeurs élaborées de $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ pour les constituants du mélange BTEX couvrent une large fourchette de concentrations. Celle-ci ne traduit pas une différence de puissance relative entre les différents constituants pour les effets neurotoxiques⁶ mais résulte de la disparité des données disponibles et de la méthodologie d'élaboration de VTR (incertitude plus grande si corpus de données limité). En effet, la $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ la plus élevée est celle du toluène car celle-ci est établie sur la base d'un corpus de données chez l'Homme conséquent (Anses, 2017b ; facteur d'incertitude global de 5 et niveau de confiance fort). À l'inverse pour le

⁶ Il est peu probable que le benzène soit 300 fois plus neurotoxique que le toluène.

benzène, la $VTM_{\text{neurotoxicité}}$ est fondée sur une seule étude de 28 jours par voie orale chez le rat avec une seule dose testée. Pour une approche plus robuste, la génération de données permettant d'établir des RPF pour la neurotoxicité semble nécessaire. Le toluène pourrait servir de composé de référence du mélange.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le groupe de travail et par le comité d'experts spécialisé : 10 mars 2022.

Signature :

Maisons-Alfort, le

Au nom des experts du GT « BTEX »,

M. Thireau
Le président du GT

Maisons-Alfort, le

Au nom des experts du CES
« Valeurs sanitaires de référence »,

M. Michiels
Le président du CES

5 Bibliographie

- Anses. (2014). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Valeur toxicologique de référence par voie respiratoire pour le benzène. Anses, Maisons-Alfort, 106 p.
- Anses. (2016). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Élaboration de VTR aiguë et chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène. Anses, Maisons-Alfort, 118 p.
- Anses. (2017a). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Guide d'élaboration de VTR de l'Anses. Rapport d'expertise collective. Anses, Maisons-Alfort, 186 p.
- Anses. (2017b). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Elaboration de VTR aiguë et chronique par voie respiratoire pour le toluène (CAS n°108-88-3). Anses, Maisons-Alfort, 62 p.
- Anses. (2020). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Les xylènes. Anses, Maisons-Alfort, 130 p.
- Anses. (2022). État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges - Réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence. Anses, Maisons-Alfort. 104 p.
- Armenta-Reséndiz M, Ríos-Leal E, Rivera-García MT, López-Rubalcava C, Cruz SL. (2019). Structure-activity study of acute neurobehavioral effects of cyclohexane, benzene, m-xylene, and toluene in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 376, 38-45.
- ATSDR. (2004). Interaction Profile for Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes (BTEX). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Public Health Service, Atlanta, GA, pp. 1–154. <https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ip-btex/ip05.pdf>
- ATSDR. (2007). Toxicological profile for xylene. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. August 2007. Atlanta, Georgie. 496 p <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>
- Baslo A, Aksoy M. (1982). Neurological abnormalities in chronic benzene poisoning: A study of six patients with aplastic anemia and two with preleukemia. *Environ Res* 27:457-465.
- Bolden AL, Kwiatkowski CF, Colborn T. (2015). New Look at BTEX: Are Ambient Levels a Problem? *Environmental science & technology*, 49(9), 5261–5276.
- Carpenter CP, Shaffer CB, Weil CS, et al. (1944). Studies on the inhalation of 1:3-butadiene; with a comparison of its narcotic effect with benzol, toluol, and styrene, and a note on the elimination of styrene by the human. *J Ind Hyg Toxicol* 26:69-78.
- Cipolla M, Bruzzone M, Stagnaro E, Ceppi M, Izzotti A, Culotta C, Piccardo MT. (2016). Health Issues of Primary School Students Residing in Proximity of an Oil Terminal with Environmental Exposure to Volatile Organic Compounds. *BioMed research international*, 2016, 4574138.
- Cornish HH, Ryan RC. (1965). Metabolism of benzene in nonfasted, fasted, and aryl-hydroxylase inhibited rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 7:767-771.
- Cronin HJ. (1924). Benzol poisoning in the rubber industry. *Boston Medical and Science Journal* 191:1164-1166.

- D'Andrea MA, Singh O, Reddy GK. (2013). Health consequences of involuntary exposure to benzene following a flaring incident at British Petroleum refinery in Texas City. *American journal of disaster medicine*, 8(3), 169–179.
- D'Andrea, M. A., & Reddy, G. K. (2014). Health effects of benzene exposure among children following a flaring incident at the British Petroleum Refinery in Texas City. *Pediatric hematology and oncology*, 31(1), 1–10.
- D'Andrea MA, Reddy GK. (2016). Detrimental Health Effects of Benzene Exposure in Adults After a Flaring Disaster at the BP Refinery Plant in Texas City. *Disaster medicine and public health preparedness*, 10(2), 233–239.
- D'Andrea MA, Reddy GK. (2017). Benzene exposure from the BP refinery flaring incident alters hematological and hepatic functions among smoking subjects. *International journal of occupational medicine and environmental health*, 30(6), 849–860.
- D'Andrea MA, Reddy, G. K. (2018). Adverse Health Complaints of Adults Exposed to Benzene After a Flaring Disaster at the BP Refinery Facility in Texas City, Texas. *Disaster medicine and public health preparedness*, 12(2), 232–240.
- Davidson CJ, Hannigan JH, Bowen SE. (2021). Effects of inhaled combined Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes (BTEX): Toward an environmental exposure model. *Environmental toxicology and pharmacology*, 81, 103518.
- Dellefratte K, Stingone JA, Claudio L. (2019). Combined association of BTEX and material hardship on ADHD-suggestive behaviours among a nationally representative sample of US children. *Paediatric and perinatal epidemiology*, 33(6), 482–489.
- Dempster AM, Evans HL, Snyder CA. (1984). The temporal relationship between behavioral and hematological effects of inhaled benzene. *Toxicol Appl Pharmacol* 76:195-203.
- EFSA. (2019). Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. *EFSA Journal* 2019;17(3):5634. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5634
- Evans HL, Dempster AM, Snyder CA. (1981). Behavioral changes in mice following benzene inhalation. *Neurobehavioral toxicology and teratology*, 3(4), 481–485.
- Flury F. (1928). Modern occupational intoxications from the aspect of pharmacology and toxicology II: Modern occupational intoxications. *Arch Exp Path Pharmacol*, 138:65–82.
- Frantik E, Hornychova M, Horvath M. (1994). Relative acute neurotoxicity of solvents: Isoeffective air concentrations of 48 compounds evaluated in rats and mice. *Environ Res* 66:173-185.
- Gagnaire F, Langlais C, Grossmann S, Wild P. (2007) Ototoxicity in rats exposed to ethylbenzene and to two technical xylene vapours for 13 weeks. *Arch. Toxicol.* 81(2):127-143.
- Haddad S, Charest-Tardif G, Tardif R, Krishnan K. (2000). Validation of a physiological modeling framework for simulating the toxicokinetics of chemicals in mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 167(3):199-209.
- Hathaway GJ, Proctor NH, Hughes JP, Fischman ML. (1991). *Proctor and Hughes' chemical Hazards of the Workplace*. 3rd ed. New York, NY: Van Nostrand Reinhold Company.
- Hsieh GC, Parker RD, Sharma RP. (1988). Subclinical effects of groundwater contaminants. II. Alteration of regional brain monoamine neurotransmitters by benzene in CD-1 mice. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 17(6), 799–805.

- Hsieh GC, Sharma RP, Parker RD. (1990). Subclinical effects of groundwater contaminants. IV. Effects of repeated oral exposure to combinations of benzene and toluene on regional brain monoamine metabolism in mice. *Archives of toxicology*, 64(8), 669–676.
- Hsieh GC, Sharma RP, Parker RD. (1991). Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis activity and immune function after oral exposure to benzene and toluene. *Immunopharmacology*, 21(1), 23–31.
- Hu J, Yu E, Liao Z. (2021). Changes in cognitive function and related brain regions in chronic benzene poisoning: a case report. *Annals of translational medicine*, 9(1), 81.
- INRS. (2019). Benzène. Fiche toxicologique n°49. Paris : INRS, 12 p.
- Kahn H, Muzyka V. (1973). The chronic effect of benzene on porphyrin metabolism. *Work Environ Health*, 10:140-143.
- Kanada M, Miyagawa M, Sato M, et al. (1994). Neurochemical profile of effects of 28 neurotoxic chemicals on the central nervous system in rats (1) effects of oral administration on brain contents of biogenic amines and metabolites. *Ind Health*, 32:145-164.
- Korsak Z, Sokal JA, Górny R. (1992). Toxic effects of combined exposure to toluene and m-xylene in animals. III. Subchronic inhalation study. *Polish journal of occupational medicine and environmental health*, 5(1), 27–33.
- Korsak Z, Wiśniewska-Knypl J, Swiercz R. (1994). Toxic effects of subchronic combined exposure to n-butyl alcohol and m-xylene in rats. *International journal of occupational medicine and environmental health*, 7(2):155–166.
- Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, et al. (2004) Hematototoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science*. 2004 ;306(5702):1774-6.
- Lauwerys RR, Buchet JP, Adrien F. (1994). Muconic acid in urine: A reliable indicator of occupational exposure to benzene. *Am J Ind Med*, 25:297-300.
- Lee EH, Eum KD, Cho SI, Cheong HK, Paek D. (2007). Acquired dyschromatopsia among petrochemical industry workers exposed to benzene. *Neurotoxicology*, 28(2):356–363.
- Li L, Sun W, Gong Z, Li X. (1992). Effect of low benzene exposure on neurobehavioral function, AChE in blood and brain and bone marrow picture in mice. *Biomedical and environmental sciences : BES*, 5(4), 349–354.
- Li AA, Maurissen JP, Barnett JF Jr, et al. (2010). Oral gavage subchronic neurotoxicity and inhalation subchronic immunotoxicity studies of ethylbenzene in the rat. *Neurotoxicology*, 31(3), 247–258.
- Midzenski MA, McDiarmid MA, Rothman N, Kolodner K. (1992) Acute high dose exposure to benzene in shipyard workers. *Am J Ind Med*; 22(4):553-65.
- NTP. (1986). Toxicology and carcinogenesis studies of benzene (CAS No. 71-43-2) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institute of Health. National Toxicology Program--technical report series no. 289. NIH publication no. 86-2545.
- OCDE. (2018). Considerations for Assessing the Risks of Combined Exposure to Multiple Chemicals, Series on Testing and Assessment No. 296, Environment, Health and Safety Division, Environment Directorate. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/considerations-for-assessing-the-risks-of-combined-exposure-to-multiple-chemicals.pdf>


- Rafati A, Erfanizadeh M, Noorafshan A, Karbalay-Doust S. (2015). Effect of benzene on the cerebellar structure and behavioral characteristics in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5(7):568-573.
- Ruiz P, Emond C, McLanahan E, Joshi-Barr S, Mumtaz M. 2020. Exploring mechanistic toxicity of mixtures using pbpk modeling and computational systems biology. *Toxicol Sci.* 174(1):38-50.
- Sabourin PJ, Chen BT, Lucier G, et al. (1987). Effect of dose on the absorption and excretion of [¹⁴C]benzene administered orally or by inhalation in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 87:325-336.
- Stingone JA, McVeigh KH, Claudio L. (2017). Early-life exposure to air pollution and greater use of academic support services in childhood: a population-based cohort study of urban children. *Environmental health : a global access science source*, 16(1), 2.
- Talbott EO, Marshall LP, Rager JR, Arena VC, Sharma RK, Stacy SL. (2015). Air toxics and the risk of autism spectrum disorder: the results of a population based case-control study in southwestern Pennsylvania. *Environmental health : a global access science source*, 14, 80.
- Tardif R, Laparé S, Charest-Tardif G, Brodeur J, Krishnan K. (1995). Physiologically-based pharmacokinetic modeling of a mixture of toluene and xylene in humans. *Risk Anal.* 15(3):335-342.
- Thienes H, Haley TJ. (1972). *Clinical toxicology*. 5th ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 124-127.
- TPHCWG. (1997). Development of Fraction-Specific Reference Doses (RfDs) and Reference Concentrations (RfCs) for Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) Vol.4. Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group. Amherst Scientific Publishers. Amherst, MA.
- US EPA. (2006). Harmonization in Interspecies Extrapolation: Use of BW^{3/4} as a Default Method in Derivation of the Oral RfD. Risk Assessment Forum Technical Panel. External review draft, EPA/630/R-06/001. Washington D.C., USA. 34 p.
- US EPA. (2009). Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Complex Mixtures of Aliphatic and Aromatic Hydrocarbons. EPA/690/R-09/012F. Washington, D.C., USA. 58 p.
- Von Ehrenstein OS, Aralis H, Cockburn M, Ritz B. (2014). In utero exposure to toxic air pollutants and risk of childhood autism. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 25(6):851–858.
- Wang F, Li C, Liu W, Jin Y. (2014). Potential mechanisms of neurobehavioral disturbances in mice caused by sub-chronic exposure to low-dose VOCs. *Inhalation toxicology*, 26(4), 250–258.
- Webb E, Moon J, Dyrszka L, Rodriguez B, Cox C, Patisaul H, Bushkin S, London E. (2018). Neurodevelopmental and neurological effects of chemicals associated with unconventional oil and natural gas operations and their potential effects on infants and children. *Reviews on environmental health*, 33(1), 3–29.
- Yousefian F, Mahvi AH, Yunesian M, Hassanvand MS, Kashani H, Amini H. (2018). Long-term exposure to ambient air pollution and autism spectrum disorder in children: A case-control study in Tehran, Iran. *The Science of the total environment*, 643, 1216–1222.
- Zavalić M, Mandić Z, Turk R, Bogadi-Sare A, Plavec D. (1998). Quantitative assessment of color vision impairment in workers exposed to toluene. *American journal of industrial medicine*. 1998 Mar;33(3):297-304.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine

2018 -SA- 0 1 5 2

COURRIER ARRIVE
0 3 JUL. 2018
DIRECTION GENERALE


LIBERTÉ • ÉGALITÉ • FRATERNITÉ
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIRE
MINISTÈRE DES SOLIDARITÉS ET DE LA SANTÉ

**DIRECTION GENERALE DE LA PREVENTION
DES RISQUES**
Service des risques technologiques
Sous-direction des risques chroniques et du pilotage
Christian Vincq
☎ : 01 40 81 92 13
christian.vincq@developpement-durable.gouv.fr
N° 123

DIRECTION GENERALE DE LA SANTE
Sous-direction de la prévention des risques
liés à l'environnement et à l'alimentation
Delphine Girard
☎ : 01.40.56. 63.40
delphine.girard@sante.gouv.fr
N° 123

Paris, le 2^e JUL. 2018

Le Directeur général de la prévention des
risques
Le Directeur général de la santé

à

Monsieur le Directeur général de l'Agence
nationale de sécurité sanitaire de
l'alimentation, de l'environnement et du
travail (Anses)
14 Rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex

OBJET : Demande d'avis relatif à la pertinence d'évaluer un potentiel risque cumulé pour les
substances toluène, xylène et benzène

PJ : Rapport technique phase 3 –Diagnostic des sols sur les lieux accueillant des enfants et
adolescents - Groupe scolaire Madrague de Montredon – Marseille (13), ERG Environnement
2016

Monsieur le Directeur général,

Dans le cadre de la gestion sanitaire des sites et sols pollués, les services de l'Etat et les
ARS sont régulièrement confrontés à la problématique de l'évaluation des risques pour la santé
des populations exposées à plusieurs polluants. La question d'un potentiel effet cocktail des
substances chimiques identifiées est en effet régulièrement soulevée par les riverains, les
associations ou encore les élus, mais ces services manquent d'outils pour y apporter une réponse
objective.

14, AVENUE DUQUESNE – 75350 PARIS 07 SP
TÉLÉPHONE : 01 40 56 60 00

L'ARS Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA) a interpellé la Direction générale de la santé au sujet d'une situation particulière concernant l'exposition à un mélange gazeux de toluène, xylène, et benzène au sein d'un groupe scolaire situé à Marseille, à proximité d'un ancien site industriel. L'établissement dont il est question a fait l'objet d'un diagnostic environnemental dans le cadre de la démarche nationale d'identification des établissements accueillant les enfants et les adolescents construits sur des sites potentiellement pollués. Bien que les concentrations mesurées pour les polluants pris individuellement soient toutes inférieures aux Valeurs Guide de l'Air Intérieur (VGAi) et/ou Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR) chroniques, l'ARS PACA s'interroge sur un éventuel effet cocktail de ces trois substances chimiques, auxquelles est notamment exposé une population sensible (enfants), et sur la manière d'appréhender les très faibles doses.

Le rapport du diagnostic environnemental réalisé dans le groupe scolaire est joint à ce courrier.

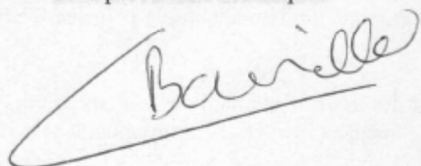
Je souhaiterais obtenir votre position sur un potentiel effet cocktail pour le mélange toluène, xylène et benzène, et plus particulièrement la réponse aux questions suivantes :

- Est-il pertinent d'évaluer les potentiels effets cumulés du mélange toluène - xylène - benzène ? Les organes cibles des substances et les pathologies induites sont-elles identiques ou comparables ? Existe-t-il d'éventuelles interactions synergiques ou antagonistes ?
- Le cas échéant, quel est l'effet cumulé sur la santé d'un mélange toluène - xylène - benzène ?
- Est-il pertinent et possible de construire une VTR pour ce mélange ?

Nous vous remercions de bien vouloir nous transmettre votre position d'ici le mois de juin 2019.

Nous vous prions d'agréer, Monsieur le Directeur général, l'expression de nos salutations distinguées.

Le Directeur général
de la prévention des risques



Le Directeur général
de la santé

Le Directeur Général de la Santé,

Professeur Jérôme SALOMON

Annexe 2 : Présentation des positions divergentes et abstentions

Un expert du GT BTEX a exprimé une position divergente en ce qui concerne l'analyse d'une publication, son avis est retranscrit ci-dessous :

Dans l'article de Li *et al.* (2010), la neurotoxicité potentielle de l'exposition orale de rats à l'éthylbenzène pendant 91 jours a été évaluée par une batterie d'observations fonctionnelles, un test de comportement dédié à la mesure de l'activité locomotrice et des analyses histopathologiques du cerveau. Le test d'activité locomotrice réalisé aux semaines 4, 8 et 13 du traitement ne montre pas d'effet sur l'activité cumulée des rats mâles et femelles. L'analyse de l'activité au cours du temps montre une activité des femelles qui reste élevée dans les dernières 10 min du test pour les groupes traités aux doses 250 et 500 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ à la 4^{ème} semaine de traitement, mais aucun effet n'est trouvé dans les tests suivants aux semaines 8 et 13. La première analyse réalisée en semaine 4 correspond plus à la réponse à la nouveauté mesurée en général avec ce dispositif, puisqu'il est connu que l'expérience diminue l'intérêt à l'exploration. Les auteurs concluent à une absence d'effet en raison de l'absence d'une réponse dose dépendante et à la présence en général de grosse variabilité à la fin de l'heure du test. Or, une activité maximale aurait pu être atteinte dès la dose de 250 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ ; des doses intermédiaires entre 50 et 250 mg.kg pc⁻¹.j⁻¹ n'ont pas été testées. Par ailleurs, les mesures effectuées chez les femelles ne tiennent pas compte du stade de leur cycle œstral. Un dimorphisme sexuel de l'activité locomotrice avec une activité plus élevée chez les femelles que chez les mâles, et une régulation par les œstrogènes ovariens avec activité plus élevée aux stades proestrous et œstrus sont bien documentés chez les rongeurs. Compte tenu de ces éléments pour le seul test comportemental réalisé, il est difficile de conclure quant aux effets neuraux de l'exposition au benzène en particulier chez les femelles, et donc de choisir un NOAEL/LOAEL pour la neurotoxicité sur la base de cette étude. La batterie d'observations fonctionnelles ne permet qu'une évaluation préliminaire, et les analyses histopathologiques renseignent sur les cas extrêmes de neurotoxicité puisque des modifications comportementales impliquant des effets sur l'activité neuronale/gliale peuvent avoir lieu sans qu'il y ait forcément de lésions cérébrales.

Par ailleurs, ce rapport d'expertise collective a été validé lors de la réunion du CES « Valeurs sanitaires de référence » du 11 mars 2022. Lors de cette réunion, un expert s'est abstenu lors du vote. Le motif de son abstention est le suivant : l'expert a estimé ne pas être en mesure d'avoir un avis suffisamment éclairé pour valider ces travaux n'ayant pu assister à l'ensemble de la présentation des différents éléments de ces expertises et aux discussions associées lors de la séance du CES VSR du 11 mars.

Annexe 3 : Recherche bibliographique BTEX à partir de 2004

Choix des mots clés: Ethylbenzene, toluene, benzene, xylene OR BTEX, toxicity, health, effect.

Equations de recherche :

Requête SCOPUS :

Edit

```
( TITLE-ABS-KEY ( benzene ) AND TITLE-ABS-KEY ( ethylbenzene ) AND TITLE-ABS-KEY ( toluene ) AND TITLE-ABS-KEY ( xylene ) AND TITLE-ABS-KEY ( BTEX ) AND TITLE-ABS-KEY ( toxicity ) AND TITLE-ABS-KEY ( effect ) AND TITLE-ABS-KEY ( health ) >>>23
```

Requête PUBMED:

```
(((((BTEX[Title/Abstract]) AND (benzene[Title/Abstract])) AND (ethylbenzene[Title/Abstract])) AND (toluene[Title/Abstract])) AND (xylene[Title/Abstract]) AND (toxicity[Title/Abstract])) AND (health[Title/Abstract]) AND (effect[Title/Abstract])) >>37
```

Total >>> 12 inclus sur titre et abstract.

Annexe 4 : Recherche bibliographique complémentaire pour l'éthylbenzène sur la période [2017-2021]

Choix des mots clés: Ethylbenzene, neuro*, brain, inh*

Equations de recherche :

Requête SCOPUS :

(TITLE-ABS-KEY (ethylbenzene) AND TITLE-ABS-KEY (inh*) AND TITLE-ABS-KEY (brain) OR TITLE-ABS-KEY (neuro*) OR TITLE-ABS-KEY (tox*) AND LANGUAGE (english)) AND PUBYEAR > 2017

>>>44

Included>>8

Requête PUBMED :

("ethylebenzene"[Title/Abstract] AND "neuro*" [Title/Abstract]) AND (2018:2022[pdat])

>>>14

Included>>5

Total >>> 7 (Critères d'exclusion: ERS, exposition, aiguë, subchronique, métrologie, TK, non neurotox).

Choix des mots clés: Ethylbenzene, neuro*/oral / gavage/food

Equations de recherche :

Requête SCOPUS :

(TITLE-ABS-KEY (ethylbenzene) AND TITLE-ABS-KEY (neuro*) AND TITLE-ABS-KEY (gavage) OR TITLE-ABS-KEY (oral) AND TITLE-ABS-KEY (food))

>>>2

Included>>1

Requête PUBMED :

(Ethylbenzene AND neurotox* AND (gavage OR oral OR food)

>>>4

Included>>1

Total >>> 1 (Critères d'exclusion: ERS, exposition, aiguë, subchronique, métrologie, TK, non neurotox).

Annexe 5 : Recherche bibliographique complémentaire pour le toluène sur la période [2018-2021]

Choix des mots clés: toluene, neuro*, inh*

Equations de recherche :

Requête SCOPUS :

```
( TITLE-ABS-KEY ( toluene ) AND TITLE-ABS-KEY ( neuro* ) AND TITLE-ABS-KEY ( inh* ) ) AND  
PUBYEAR > 2017 AND PUBYEAR < 2022  
>>>58
```

Requête PUBMED :

```
((((toluene[Title/Abstract]) AND (neuro*[Title/Abstract])) AND (inh*[Title/Abstract])) AND  
(("2018"[Date - Entry] : "3000"[Date - Entry]))  
>>>0
```

Total >>> 0 (Critères d'exclusion: ERS, exposition, aigue, subchronique, métrologie, TK, non neurotox).

Annexe 6 : Recherche bibliographique complémentaire pour le benzène sur la période [2012-2020]

Equations de recherche :

Requête SCOPUS :

TITLE (benzene)

AND

(TITLE-ABS-KEY (exposure) OR TITLE-ABS-KEY (inhal*) OR TITLE-ABS-KEY (stud*) OR TITLE-ABS-KEY (long-term) OR TITLE-ABS-KEY (acute) OR TITLE-ABS-KEY (chronic) OR TITLE-ABS-KEY (subchronic) OR TITLE-ABS-KEY (effect*) OR TITLE-ABS-KEY (sensitivity) OR TITLE-ABS-KEY (health) OR TITLE-ABS-KEY (mortality) OR TITLE-ABS-KEY (susceptibility) OR TITLE-ABS-KEY (toxic*))

AND

(TITLE-ABS-KEY (man) OR TITLE-ABS-KEY (human) OR TITLE-ABS-KEY (occupation*) OR TITLE-ABS-KEY (workers) OR TITLE-ABS-KEY (animal) OR TITLE-ABS-KEY (mice) OR TITLE-ABS-KEY (rat) OR TITLE-ABS-KEY (guinea pig) OR TITLE-ABS-KEY (rabbit))

AND

(LIMIT-TO (PUBYEAR , 2016) OR (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2015) OR (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2014) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2013) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2012)))

AND

(LIMIT-TO (LANGUAGE , "English"))

N = 711 (Novembre 2020)

Requête PUBMED :

Benzene and inhalation and toxicity (Post 2012)

N = 108 (Novembre 2020)

> N scopus + pubmed après suppression des doublons N = 779 (nov 2020)

> Titres et résumés : N = 40 en lien avec neurotoxicité

> Retenus N = 7

Notes



anses

AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail

14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 42 76 40 40
www.anses.fr — @Anses_fr