

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour le Di-n-butylphtalate

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2017

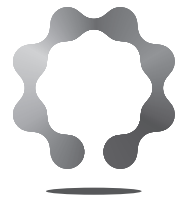
Édition scientifique

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



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour le Di-n-butylphtalate

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2017

Édition scientifique

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

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 26 octobre 2017

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

relatif à l'élaboration de VTR par voie orale fondée sur des effets reprotoxiques pour le Di-n-butylphthalate (CAS n°84-74-2)

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

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

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

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

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

Ses avis sont publiés sur son site internet.

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

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

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

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

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

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

Le présent avis se fonde, pour ce qui concerne les aspects scientifiques, sur les rapports des organismes experts prestataires regroupés dans le document de référence de l'Afsset, décembre 2006, annexe 2 cité ci-dessus, sur les rapports d'expertise qui ont été adoptés par le CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » entre le 16 juin 2008 et le 17 septembre 2009 et sur la note de synthèse du CES pour le di-n-butylphtalate : Validation de VTR fondées sur des effets reprotoxiques : le di-n-butylphtalate (CAS 84-74-2). Version finale. Août 2008 ; Note de synthèse adoptée le 25 septembre 2008.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

- Le di-n-Butylphtalate (DnBP) est un plastifiant de la famille des phtalates. Bien que l'exposition par voie respiratoire ou cutanée soit possible, l'exposition de la population générale est principalement orale. Il a donc été jugé pertinent de construire une VTR par voie orale.
- Les effets observés chez l'animal sont des effets sur le développement de l'appareil reproducteur mâle tels que des lésions testiculaires ou de l'épididyme, diminution de la distance anogénitale, augmentation du taux d'hypospadias, persistance des mamelons. Les effets observés chez l'animal paraissent pertinents pour l'homme. Ce point est argumenté par une étude récente chez l'homme qui a mis en évidence une relation entre l'exposition aux phtalates des mères pendant la grossesse et l'atténuation de l'action androgénique chez les bébés mâles.
- Le mécanisme avancé (effet anti-androgénique lié à une à une diminution importante de la sécrétion de testostérone avec principalement une atteinte des cellules de Sertoli) est plausible chez l'homme.
- Le métabolisme du DnBP chez l'homme et l'animal est similaire avec production d'un monoester commun (MBuP). Cependant, il existe des différences quantitatives de glucuroconjugaison des métabolites monoesters du DnBP chez le rat et chez l'Homme. Le CES attire l'attention sur l'absence de connaissances sur l'impact de ces différences et leurs conséquences éventuelles sur des variations de toxicité inter-espèces.
- Depuis 2001, le DnBP est classé par l'U.E. comme substance reprotoxique chez l'homme de catégorie 2 pour le développement et de catégorie 3 pour la fertilité en application de la Directive 67/548/CE.

L'Afsset propose ainsi la construction d'une VTR spécifique aux effets sur le développement pendant la gestation, associé à une exposition subchronique chez l'homme et la femme.

| Effet critique | Dose critique* | UF | VTR |
|---|---|---|--|
| Diminution spermatocytaire et dysplasies mamelonnaires observées dans la descendance Etude de toxicité prénatale orale chez le rat Sprague-Dawley (GD15-PND21) Lee <i>et al.</i> 2004 | Absence de NOAEL LOAEL = 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹ Pas de construction de BMDL | 1000 UF _A 10 UF _H 10 UF _L 10 | VTR = 2 µg.kg⁻¹.j⁻¹ |

LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL = No Observed Adverse Effect Level; BMD = Benchmark Dose; UF = *uncertainty factors* (facteurs d'incertitude). UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_L : utilisation d'un LOAEL plutôt que d'une dose sans effet, GD : Gestation Day, PND : Post Natal Day.

* Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NEANT.

La VTR est construite sur la base des connaissances actuelles. Or, l'état de ces connaissances sur la toxicité des phtalates dont les plus connus ont une toxicité sur le développement liée à leur activité de perturbateur endocrinien, diffère beaucoup d'une substance à une autre. Les études toxicologiques n'ayant pas été conduites selon les mêmes protocoles pour tous les phtalates, les LOAEL et les NOAEL issus de ces études ne peuvent être mis en regard et les VTR proposées ne peuvent être le reflet direct de la toxicité de ces substances.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES qui portent sur l'élaboration d'une VTR reprotoxique par voie orale pour le di-n-butylphtalate.

Dr Roger Genet

MOTS-CLÉS

Di-n-butylphtalate, reprotoxicité, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence, dose critique, facteurs d'incertitude, effets santé, population générale.

ANNEXE 1 : SUIVI DES ACTUALISATIONS DU RAPPORT

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

Valeurs toxicologiques de référence

Elaboration d'une VTR reprotoxique par voie orale pour le di-n-butylphtalate
(n°CAS 84-74-2)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »
Saisine n°2017-SA-0207
Saisine liée n°2003/AS03-4

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

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

Novembre 2009

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

Mots clés

Di-n-butylphtalate, reprotoxicité, développement, fertilité, valeurs toxicologiques de référence, dose critique, facteurs d'incertitude, effets santé, population générale.

Key words

Dibutyl phthalate, reprotoxicity, development, fertility, TRV, Toxicological reference value, critical dose, uncertainty factor, health effects, general population

Présentation des intervenants

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

RAPPORTEURS

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, évaluation des risques liés à la femme enceinte en entreprise, INRS. Membre du CES « évaluation des risques liés aux substances chimiques » de l'Afsset.

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- Evaluation des risques liés aux substances chimiques – 29 mai 2008, 16 juin 2008 et 25 septembre 2008

Président

M. Michel GUERBET – Professeur des Universités en toxicologie

Membres

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

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

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

Mme Christine CEZARD – Pharmacien toxicologue en centre anti-poison

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

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

Mme Brigitte ENRIQUEZ – Pharmaco-toxicologue

M. Olivier FARDEL – Professeur des Universités en toxicologie

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

M. Luc FERRARI – Pharmacien toxicologue

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

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

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

- Mme Dominique GUENOT – Chercheur en cancérologie et neurosciences
- M. Cong Khanh HUYNH – Dr ès Science, ingénieur chimiste spécialisé en santé au travail
- M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue, évaluation des risques liés à la femme enceinte en entreprise
- Mme Béatrice LALERE – Docteur en chimie analytique et en environnement
- Mme Annie LAUDET-HESBERT – Pharmacien toxicologue, retraitée de l'INRS
- M. Jean-Pierre LEPOITTEVIN – Professeur des universités en dermatochimie
- Mme Anne-Christine MACHEREY – Docteur en toxicologie, spécialisée dans la prévention du risque chimique
- Mme Florence MENETRIER – Pharmacien, chef de projet dans le domaine de la toxicologie nucléaire, CEA
- Mme Annie PFOHL-LESZKOWICZ – Professeur d'Université en toxicologie et sécurité alimentaire, Pharmacien-Toxicologue
- M. Daniel PICART – Retraité de l'enseignement et de la recherche en chimie structurale
- M. Alain-Claude ROUDOT – Enseignant chercheur en statistique et analyse de risque
- Mme Béatrice SECRETAN – Docteur en toxicologie spécialisée dans l'évaluation de la cancérogénicité des substances
- Mme Anne STEENHOUT – Chimiste, spécialiste en évaluation intégrée des risques sanitaires
- M. Robert TADRIF – Chimiste et toxicologue, spécialisé en santé environnement et santé au travail
- M. Eric THYBAUD – Ecotoxicologue.

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

- Mme Nathalie BONVALLOT – Chef de projet scientifique – toxicologue – Afsset
- Mme Aurélie MATHIEU – Chargée de projet scientifique – pharmacien – Afsset
- M. Christophe ROUSSELLE – Chef d'unité - toxicologue – Afsset

Secrétariat administratif

- Mme Séverine BOIX – Afsset

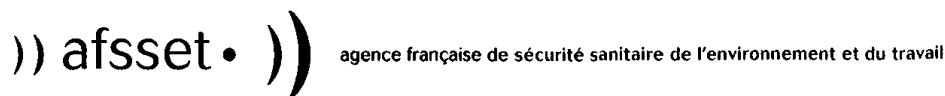
CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU COLLECTIF

M. Bertrand JEHANNIN, Mme le Pr. Dominique PARENT-MASSIN – « Construction d'une VTR reprotoxique pour le nonylphénol (4NP, CAS 84852-15-3) selon la méthode proposée dans le document de référence. Organisation des connaissances. 27 juin 2006 » LTA EA 3880, ESMISAB/UBO, Technopôle Brest-Iroise 29280 PLOUZANE.

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| Présentation des intervenants | 3 |
| Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions | 6 |
| Sigles et abréviations | 14 |
| 1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine..... | 15 |
| 1.1 Contexte..... | 15 |
| 1.2 Objet de la saisine..... | 15 |
| 1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation..... | 16 |
| 2 Recueil des données toxicologiques..... | 17 |
| 2.1 Toxicocinétique..... | 17 |
| 2.2 Toxicité générale..... | 17 |
| 2.3 Effets reprotoxiques | 17 |
| 2.4 Mécanisme d'action | 18 |
| 3 Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR..... | 19 |
| 3.1 Choix de l'effet critique..... | 19 |
| 3.2 Choix de l'étude | 19 |
| 3.3 Choix de la dose critique | 20 |
| 3.4 Choix des facteurs d'incertitude | 20 |
| 4 Conclusions de l'expertise collective | 22 |
| 5 Bibliographie..... | 23 |
| ANNEXES | 24 |
| Annexe 1 : Lettre de saisine..... | 25 |
| Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport..... | 27 |

Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions



EXPERTISE COLLECTIVE : SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Relatives à la construction d'une VTR fondée sur les effets reprotoxiques du Di-n-butylphtalate (N°CAS 84-74-2)

Saisine Afsset n°2003/AS03

Ce document synthétise les travaux du prestataire et du rapporteur et présente les éventuels compléments du Comité d'Experts Spécialisés.

Présentation de la question posée

Dans le cadre du programme de travail de l'Afsset sur les VTR reprotoxiques, une phase pilote a été organisée afin de s'assurer de la mise en pratique de la méthode de construction proposée. Des VTR reprotoxiques ont été construites sous forme de prestation pour le linuron, le di-n-butylphtalate (DnBP), le benzylbutylphtalate (BBP), le nonylphénol, le toluène et le 2-éthoxyéthanol (EGEE). La DGS a saisi l'Afsset le 25 juillet 2007 pour que ces VTR soient validées dans le cadre de l'expertise collective de l'Agence.

Organisation de l'expertise

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » la validation de ces VTR. Ce dernier a mandaté un rapporteur pour l'expertise du DnBP qui a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise ».

Description de la méthode de travail

Sur la base du document « construction/ choix d'une VTR reprotoxique pour le DnBP » réalisé par l'équipe du laboratoire de toxicologie de l'Université de Bretagne Occidentale¹, le rapporteur a évalué la conformité de la méthode employée par rapport aux préconisations du groupe de travail sur les points suivants : i) recherche d'informations et ii) profil toxicologique en vue de sélectionner l'effet critique et l'étude source à exploiter. Il donne ensuite son avis sur les choix effectués au regard des données disponibles.

La construction des VTR diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur les mécanismes d'action toxique de la substance. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et des conventions, on considère généralement que la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose pour les effets

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

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

reprotoxiques (à l'exception des effets mutagènes sur cellules germinales). Ce postulat peut néanmoins être remis en cause si les données disponibles le justifient.

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

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

En pratique, la construction de la VTR comprend les quatre étapes suivantes :

- choix de l'effet critique ;
- choix d'une étude de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse (ou dose – effet) ;
- choix ou construction d'une dose critique à partir des doses expérimentales et/ou des données épidémiologiques ;
- application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes.

La méthode est détaillée dans le document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques (Afsset. Décembre 2006) et la construction de la VTR du DnBP s'appuie sur cette méthode.

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

Résultats de l'expertise collective

Recueil des données toxicologiques

Cette partie est fondée sur le résumé des travaux réalisés en 2006 par le prestataire dans le cadre de la phase pilote. Pour plus d'information, le lecteur pourra se reporter au document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques, annexe 2. Compte tenu de la richesse de la littérature scientifique sur les effets toxiques du DnBP, le rapport est basé sur les monographies réalisées antérieurement à ce travail par des instances nationales et sur la littérature parue après ces monographies.

Le DnBP est un plastifiant de la famille des esters de phtalates. En Europe, il est utilisé pour majeure partie dans la production des résines et polymères comme le PVC. On le retrouve également dans les adhésifs et les emballages alimentaires. L'exposition majoritaire de l'Homme en général (hors usage spécifique) se fait par voie orale. En outre, les données disponibles ont été principalement obtenues par voie orale. Il a donc été jugé pertinent, dans le cadre de cette expertise, de construire une VTR par voie orale.

Le DnBP est classé depuis 2001 (28^{ème} ATP) par l'Union Européenne comme substance reprotoxique chez l'homme de catégorie 2 pour le développement (risque pendant la grossesse d'effet néfaste pour l'enfant) et de catégorie 3 pour la reproduction (risque possible d'altération de la fertilité).

Toxicocinétique

Chez les rongeurs, après absorption par voie orale, le DnBP est hydrolysé par des estérases au niveau du tissu intestinal pour former le dérivé majoritaire monoester « monobutylphtalate » ou MBuP, rapidement et largement absorbé par le tractus gastro-

intestinal. Le MBuP peut ensuite subir une oxydation de sa chaîne latérale. Les métabolites urinaires sont principalement le dérivé glucuroconjugué du MBuP et le MBuP libre (environ 66-70 % des métabolites) et les dérivés oxydés du MBuP. Il existe des différences entre espèces concernant l'excrétion des métabolites conjugués ou non. Chez l'Homme, des proportions similaires de MBuP total dans les urines de 24 heures ont été retrouvées chez des volontaires exposés par voie orale (environ 64-73 % des métabolites). Une étude a montré que le MBuP conjugué (essentiellement glucuroconjugué) représentait 94 % du MBuP total urinaire chez l'Homme (Saillenfait et Laudet, 2005).

Toxicité générale

Par voie orale, la prolifération des peroxyosomes hépatiques observée chez le rat exposé au DnBP a longtemps été considérée comme l'effet néfaste le plus sensible. Néanmoins il existe aujourd'hui un consensus scientifique selon lequel cet effet ne peut être transposé à l'homme : la prolifération des peroxyosomes hépatiques serait bien plus faible chez l'homme que chez le rongeur. Les effets hépatiques liés à cette prolifération ne sont donc pas attendus chez l'homme aux doses expérimentales animales. La reprotoxicité et les troubles du développement du DnBP sont donc les deux principaux effets toxiques considérés pour l'homme.

Effets reprotoxiques

Les études de toxicité du DnBP mettent principalement en évidence des troubles du développement au niveau de l'appareil reproducteur mâle. Ces effets sont, en l'état actuel des connaissances, considérés comme les effets critiques pour l'exposition orale au DnBP. Ces effets sont décrits chez des rats exposés *in utero* via l'alimentation maternelle. L'exposition a lieu en fin de gestation, période clef du développement de l'appareil reproducteur. Parmi les effets critiques rapportés, les plus fréquents sont une diminution de la distance anogénitale, une cryptorchidie, un hypospadias, une hypoplasie ou une agénésie épидидymaire, une hypospermie, une dysgénésie testiculaire focale et une persistance mamelonnaire. De tels effets ont également été observés chez l'homme à l'issue d'une étude épidémiologique publiée en 2005, seule étude humaine identifiée à ce jour (Swan *et al.* 2005). Cette étude a montré une relation significative entre les concentrations urinaires de DnBP observées chez la mère pendant la grossesse et les anomalies de l'appareil génital externe chez les nouveau-nés mâles (diminution de la distance anogénitale, trouble de la migration testiculaire, hypoplasie scrotale).

A partir de la revue de la littérature sur la reprotoxicité du DnBP, et en s'appuyant sur les données les plus récentes et les VTR déjà disponibles, trois études réalisées chez l'animal ont été retenues. Elles sont jugées représentatives des effets reprotoxiques observés. Elles sont synthétisées ci-après.

Une première étude, sur deux générations (Wine, 1997), a été réalisée chez des rats Sprague-Dawley exposés en alimentation continue à 52, 256 et 509 mg/kg/j chez les mâles et 80, 385 et 794 mg/kg/j chez les femelles. Les indices d'accouplement, de gestation et de fertilité de la génération F1 sont inférieurs à ceux de F0 à la dose la plus forte. A partir de 256 mg/kg/j chez les mâles et 385 mg/kg/j chez les femelles, de nombreuses anomalies des organes reproducteurs sont observées (diminution du poids de ces organes, lésions dégénératives de l'épithélium germinale testiculaire, hyperplasie interstitielle, absence ou hypoplasie de l'épididyme). Les effets au niveau de la seconde génération (F2) sont identiques mais plus sévères et apparaissent aux premières doses testées, dès 52 mg/kg/j pour les mâles et 80 mg/kg/j pour les femelles (en l'absence de toxicité maternelle pour la première dose testée). Aucun NOAEL n'a pu être identifié pour la génération F2.

La deuxième étude a été réalisée chez le rat Sprague-Dawley exposé *in utero* via gavage de la mère du 12^{ème} au 21^{ème} jour de la gestation à 0 – 0,5 – 50 – 100 et 600 mg/kg/j (Mylchreest *et al.* 2000). Chez les nouveaux-nés mâles, de nombreuses lésions de l'appareil reproducteur mâle sont observées dans le groupe de dose le plus élevé. Dès 100 mg/kg/j, une absence de régression des mamelons est constatée. Cet effet apparaît comme un marqueur représentatif d'une altération de la différenciation sexuelle. Le NOAEL a été identifié à 50 mg/kg/j.

La troisième étude (Lee *et al.* 2004) a été réalisée chez le rat Sprague-Dawley exposé *in utero* et pendant la lactation (exposition des mères par voie orale à partir du 15^{ème} jour de gestation et jusqu'au 21^{ème} jour après la mise bas) aux doses de 0 – 2 – 24 – 234 et 1137 mg/kg/j. Une réduction des spermatoocytes testiculaires est constatée au 21^{ème} jour postnatal pour la première dose testée (2 mg/kg/j), ainsi qu'une hypoplasie des bourgeons alvéolaires chez les femelles. Le LOAEL a été identifié à 2 mg/kg/j sur l'observation de la diminution spermatoocytaire et des dysplasies mamelonaires chez les nouveau-nés mâles ou femelles. Aucun NOAEL n'a pu être identifié.

Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action proposé pour le DnBP implique une perturbation endocrinienne avec une action anti-androgénique liée à une diminution importante de la sécrétion de testostérone et une atteinte des cellules de Sertoli.

Au vu de l'ensemble des données disponibles, il apparaît que les effets reprotoxiques et développementaux observés chez l'animal ne puissent pas être écartés chez l'homme.

Analyse et évaluation des choix pour la construction de la VTR

Choix de l'effet critique

Les effets sur le développement les plus pertinents sont observés au niveau de l'appareil reproducteur mâle. L'atteinte est aussi bien histologique que fonctionnelle. L'effet critique retenu, à savoir **l'atteinte histologique et fonctionnelle de l'appareil reproducteur mâle**, est en cohérence avec l'ensemble des rapports publiés et ne porte *a priori* pas à discussion. Ces atteintes sont diverses en fonction des études : lésions testiculaires (troubles de la migration, lésions dégénératives des tubes séminifères, diminution des spermatoocytes, hyperplasie des cellules interstitielles), lésions de l'épididyme, des vésicules séminales, diminution de la distance ano-génitale, augmentation du taux d'hypospadias et persistance des mamelons. Ces effets signent un mécanisme de perturbation endocrinienne.

Choix de l'étude

Les trois études retenues décrites ci-dessus sont jugées de bonne qualité et ont été également choisies par des organismes internationaux reconnus dans le cadre de construction de VTR. Les trois expérimentations animales sont conduites selon des protocoles rigoureux : « *National Toxicology Program's, R.A.C.B. Protocol* » pour les deux premières, « *Animal Care and Use Committee of the National Institute of Health Sciences* » (Japan) pour la troisième. Ces études ont donc été classées 1 sur la base de la classification de Klimisch et peuvent être retenues pour la construction d'une VTR. Les deux plus anciennes sont analysées dans le rapport d'évaluation des risques de l'Union Européenne. Elles répondent à une problématique « effets sur le développement » avec des protocoles d'études différents. Seule l'étude de Lee (2004) prend en compte une période d'exposition jusqu'à la fin de la lactation (PND21). Les différences d'effets observés sur les testicules entre l'étude de Mylchreest (2000) et l'étude de Lee (2004) pourraient être liées à l'utilisation de tests non comparables. De même, dans l'étude de Wine (1997), les effets sur le testicule

ne sont pas étudiés pour des doses inférieures à 250 à 400 mg/kg/j, ce qui peut expliquer les différences de résultats avec Lee.

Le choix final entre les trois études repose essentiellement sur :

- La qualité de l'étude (Klimisch 1) ;
- L'observation d'effets signant une perturbation endocrinienne en l'absence d'une toxicité maternelle ;
- L'utilisation d'une période de sensibilité critique ;
- Le suivi post-traitement comprenant une comparaison de l'évolution des signes de toxicité ;
- A critères égaux, l'identification du LOAEL le plus faible.

Ainsi, en l'absence d'éléments permettant de prédire l'impact sanitaire des modifications observées chez l'animal pour l'Homme à long terme, et bien que l'étude de Lee ne permette pas d'identifier un NOAEL, le CES estime prudent de retenir l'étude de **Lee *et al.* (2004)** comme étude source.

Dans cette étude, des rates Sprague-Dawley (8 animaux par dose) ont été exposées via la nourriture du quinzième jour de gestation (GD15) jusqu'au 21^{ème} jour après la parturition (PND21), soit la fin de la lactation. L'alimentation est supplémentée en DnBP à des concentrations égales à 0 – 20 – 200 – 2000 et 10000 ppm, correspondant à des doses de 0 – 2 – 24 – 234 et 1137 mg/kg/j en poids corporel. Une réduction des spermatozoaires testiculaires est constatée au 21^{ème} jour après la naissance dès la concentration de 20 ppm (2 mg/kg/j) chez 50 % des mâles, de même que des changements au niveau des glandes mammaires chez les nouveau-nés de sexe féminin (hypoplasie des bourgeons alvéolaires). Les effets retenus sont une **diminution spermatocytaire chez le mâle (p<0,05) et des hypoplasies mamelonnaires chez les femelles (p<0,05)**.

Choix de la dose critique

Dans l'étude retenue, la diminution spermatocytaire et les lésions dysplasiques mamelonnaires sont constatées dès la plus faible dose testée, correspondant à un **LOAEL de 2 mg/kg/j**. Aucun NOAEL ne peut donc être proposé. On peut simplement préciser que le NOAEL se situe entre 0 et 2 mg/kg/j.

Pour déterminer ce LOAEL, les auteurs ont utilisé plusieurs méthodes d'analyse en fonction des données. Les seuils de 0,05 et de 0,01 ont été retenus pour la significativité des résultats. Les lésions histopathologiques ont été comparées par un test de Fischer exact et la sévérité des lésions histopathologiques avec un test de Mann-Whitney (U).

Dans le cadre de l'évaluation des risques du DnBP, l'Union Européenne a proposé un LOAEL de 50 mg/kg/j en se basant sur l'étude de Wine (1997) (European Union, 2003). D'autres études non référencées dans le rapport européen ont été publiées depuis (Mylchreest, 2000 ; Lee *et al.* 2004). Dans le cadre de ce travail, en tenant compte des éléments récents, un LOAEL 25 fois plus faible, de 2 mg/kg/j, est proposé pour la construction de la VTR sur la base de l'étude de Lee (2004).

Pendant la phase pilote, l'Afsset a proposé de construire une BMDL en considérant la diminution des spermatozoaires. La réponse obtenue est de type dichotomique (effet / absence d'effet). Plusieurs modèles ont été testés, dont les modèles gamma (modèle stochastique) et weibull (modèle de distribution) qui s'appliquent pour des réponses dichotomiques. Un niveau de réponse (BMR) de 10 % en « extra risk » a été retenu (l'extra risk correspond à l'augmentation du risque comparativement à la probabilité de ne pas être affecté dans le groupe témoin, réponse vraisemblablement plus conservatrice). On obtient une BMD₁₀ à 0,08 mg/kg/j et une BMDL₁₀ à 4,4.10⁻⁵ mg/kg/j (les résultats de l'ensemble de la

démarche sont détaillés dans le « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques », annexe 3).

Le LOAEL avait été fixé à 2 mg/kg/j. Ce LOAEL correspond à une incidence de réponse (pour la réduction du développement spermatocytaire) de 50 %, ce qui est très élevé. Il est donc logique que la BMD₁₀ soit très inférieure à ce LOAEL (10 % de réponse). La BMDL est par ailleurs très éloignée de la BMD ; ceci est lié au fait que le nombre de points et le nombre d'animaux testés sont faibles et le niveau d'effet constaté élevé et éloigné de la BMR retenue (10 %). Ces limites méthodologiques ne permettent pas de retenir la BMDL comme dose critique.

Choix des facteurs d'incertitude

- UF_A : variabilité inter-espèces : le facteur retenu est le facteur maximal de 10. Cela est justifié par les résultats de l'étude épidémiologique de Swan *et al.* (2005) qui semble confirmer que les effets anti-androgéniques mis en évidence chez l'animal peuvent également se produire chez l'Homme. Si la glucuronocouplage du monobutylphtalate apparaît plus élevée chez l'Homme que chez le rat, on peut penser que la substance est plus rapidement détoxifiée chez l'Homme, mais en l'absence d'éléments quantitatifs plus précis, il reste prudent de considérer un facteur inter-espèce par défaut.
- UF_H : variabilité intra-espèce : le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la plus grande variabilité au sein de l'espèce humaine.
- UF_L : utilisation d'un LOAEL : les préconisations de l'Afsset sont un facteur 3 ou 10 en fonction des cas. Dans le cas du DnBP, deux arguments sont avancés :
 - L'un en faveur de l'application d'un facteur de 3, justifié par l'utilisation de l'étude ayant identifié un LOAEL très faible par rapport aux autres études (dans les autres études, les NOAEL peuvent être jusqu'à 25 fois plus élevés), suggérant que les effets retenus sont très sensibles ;
 - L'autre en faveur de l'application d'un facteur de 10, justifié par la grande variabilité au sein de l'étude comme en témoigne la différence observée entre les valeurs de la BMD et de la BMDL, et l'absence de NOAEL. En outre, la première dose testée entraîne déjà un effet chez 50 % des animaux pour la diminution spermatocytaire et 100 % des animaux pour la dysplasie mamelonnaire.

Le CES choisit au final l'application d'un facteur UF_L de 10, en accord avec la méthode de construction de VTR reprotoxiques de l'Afsset.

Le Comité d'Experts Spécialisés « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » adopte les résultats de l'expertise collective lors de sa séance du 10 juillet 2008 et fait part de cette adoption à la direction générale de l'Afsset.

Conclusions de l'expertise collective

- ▶ Le métabolisme du DnBP chez l'Homme et l'animal est globalement similaire avec production d'un monoester commun (MBuP). Cependant il existe des différences quantitatives de glucuroconjugaison des métabolites monoesters du DnBP chez le rat et chez l'Homme. Le CES attire l'attention sur l'absence de connaissances sur l'impact de ces différences et leurs conséquences éventuelles sur des variations de toxicité inter-espèces ;
- ▶ Le mécanisme avancé (effet anti-androgénique lié à une à une diminution importante de la sécrétion de testostérone avec principalement une atteinte des cellules de Sertoli) est plausible chez l'Homme ;
- ▶ Les effets observés chez l'animal sont des effets sur le développement de l'appareil reproducteur mâle telles que lésions testiculaires ou de l'épididyme, diminution de la distance ano-génitale, augmentation du taux d'hypospadias, persistance des mamelons ;
- ▶ Les effets observés chez l'animal paraissent pertinents pour l'Homme. Ce point est argumenté par une étude récente chez l'homme qui a mis en évidence une relation entre l'exposition aux phtalates des mères pendant la grossesse et l'atténuation de l'action androgénique chez les bébés mâles.

Le CES propose ainsi la construction d'une VTR spécifique aux effets sur le développement pendant la gestation, pour une exposition subchronique.

| -- Di-n-butyl phtalate (DnBP) 84-74-2 -- | | | |
|---|--|--|---|
| Effet critique | Dose critique ² | UF | VTR |
| Diminution spermatocytaire et dysplasies mamelonnaires observés dans la descendance | LOAEL = 2 mg/kg/j Absence de NOAEL BMDL peu pertinente | 1000 | VTR = 0,002 mg/kg/j |
| Etude de toxicité prénatale orale chez le rat Sprague-Dawley (GD15-PND21) | | UF _A 10 UF _H 10 UF _L 10 | Niveau de confiance Recueil de données : fort Etude : moyen (incertitude +) Dose critique : moyen (absence de NOAEL) VTR : moyen |
| Lee <i>et al.</i> 2004 | | | |

La VTR est construite sur la base des connaissances actuelles. Dans le cadre des phtalates, dont les plus connus ont une toxicité sur le développement liée à leur caractère perturbateur

² Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NEANT. Le CES n'a pas souhaité appliquer d'ajustement allométrique à la dose critique car ce type d'ajustements n'a pas encore fait l'objet d'une étude approfondie en France, et le document de référence pour la construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques n'a pas encore abordé cette question. La nécessité d'approfondir la compréhension des transpositions animal – homme et du facteur d'incertitude UF_A incite à recommander qu'une réflexion plus poussée soit faite en ce sens.

Expertise collective : synthèse et conclusions

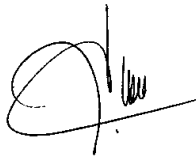
Saisine n° 2003/AS03

endocrinien, les niveaux de connaissances sont différents d'une substance individuelle à l'autre. Les études toxicologiques n'étant pas conduites selon les mêmes protocoles pour tous les phtalates, les LOAEL et les NOAEL issus de ces études ne peuvent être mis en regard et les VTR proposée ne peuvent être le reflet direct de la toxicité de ces substances. Ainsi, bien que le benzylbutylphtalate (BBP) et le DnBP aient probablement une toxicité similaire, la VTR proposée pour le DnBP est plus faible que celle du BBP.

Maisons-Alfort, le 25 septembre 2008.

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

le président du CES



Sigles et abréviations

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

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

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

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

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

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

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

1.2 Objet de la saisine

Le 25 juillet 2007, le Directeur général de la santé (DGS) et le Directeur général de la prévention des risques (DGPR) saisissaient l'Afsset afin de faire valider par le CES concerné les VTR

proposées lors de la phase pilote mise en place lors de l'élaboration de la méthode de construction de VTR fondées sur des effets reprotoxiques, à savoir le linuron, le DnBP, le BBP, le nonylphénol, le toluène et l'EGEE.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

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

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

Les conclusions présentées dans ce document sont ainsi issues d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

2 Recueil des données toxicologiques

Cette partie est fondée sur le résumé des travaux réalisés en 2006 par le prestataire dans le cadre de la phase pilote. Pour plus d'information, le lecteur pourra se reporter au document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques, annexe 2. Compte tenu de la richesse de la littérature scientifique sur les effets toxiques du DnBP, le rapport est basé sur les monographies réalisées antérieurement à ce travail par des instances nationales et sur la littérature parue après ces monographies.

Le DnBP est un plastifiant de la famille des esters de phtalates. En Europe, il est utilisé pour majeure partie dans la production des résines et polymères comme le PVC. On le retrouve également dans les adhésifs et les emballages alimentaires. L'exposition majoritaire de l'Homme en général (hors usage spécifique) se fait par voie orale. En outre, les données disponibles ont été principalement obtenues par voie orale. Il a donc été jugé pertinent, dans le cadre de cette expertise, de construire une VTR par voie orale.

Le DnBP est classé depuis 2001 (28^{ème} ATP) par l'Union Européenne comme substance reprotoxique chez l'homme de catégorie 2 pour le développement (risque pendant la grossesse d'effet néfaste pour l'enfant) et de catégorie 3 pour la reproduction (risque possible d'altération de la fertilité).

2.1 Toxicocinétique

Chez les rongeurs, après absorption par voie orale, le DnBP est hydrolysé par des estérases au niveau du tissu intestinal pour former le dérivé majoritaire monoester « monobutylphtalate » ou MBuP, rapidement et largement absorbé par le tractus gastro-intestinal. Le MBuP peut ensuite subir une oxydation de sa chaîne latérale. Les métabolites urinaires sont principalement le dérivé glucuroconjugué du MBuP et le MBuP libre (environ 66-70 % des métabolites) et les dérivés oxydés du MBuP. Il existe des différences entre espèces concernant l'excrétion des métabolites conjugués ou non. Chez l'Homme, des proportions similaires de MBuP total dans les urines de 24 heures ont été retrouvées chez des volontaires exposés par voie orale (environ 64-73 % des métabolites). Une étude a montré que le MBuP conjugué (essentiellement glucuroconjugué) représentait 94 % du MBuP total urinaire chez l'Homme [Saillenfait et Laudet, 2005].

2.2 Toxicité générale

Par voie orale, la prolifération des peroxyosomes hépatiques observée chez le rat exposé au DnBP a longtemps été considérée comme l'effet néfaste le plus sensible. Néanmoins il existe aujourd'hui un consensus scientifique selon lequel cet effet ne peut être transposé à l'homme : la prolifération des peroxyosomes hépatiques serait bien plus faible chez l'homme que chez le rongeur. Les effets hépatiques liés à cette prolifération ne sont donc pas attendus chez l'homme aux doses expérimentales animales. La reprotoxicité et les troubles du développement du DnBP sont donc les deux principaux effets toxiques considérés pour l'homme.

2.3 Effets reprotoxiques

Les études de toxicité du DnBP mettent principalement en évidence des troubles du développement au niveau de l'appareil reproducteur mâle. Ces effets sont, en l'état actuel des connaissances, considérés comme les effets critiques pour l'exposition orale au DnBP. Ces effets

sont décrits chez des rats exposés *in utero* via l'alimentation maternelle. L'exposition a lieu en fin de gestation, période clef du développement de l'appareil reproducteur. Parmi les effets critiques rapportés, les plus fréquents sont une diminution de la distance anogénitale, une cryptorchidie, un hypospadias, une hypoplasie ou une agénésie épидидymaire, une hypospermie, une dysgénésie testiculaire focale et une persistance mamelonaire. De tels effets ont également été observés chez l'homme à l'issue d'une étude épidémiologique publiée en 2005, seule étude humaine identifiée à ce jour [Swan *et al.*, 2005]. Cette étude a montré une relation significative entre les concentrations urinaires de DnBP observées chez la mère pendant la grossesse et les anomalies de l'appareil génital externe chez les nouveau-nés mâles (diminution de la distance anogénitale, trouble de la migration testiculaire, hypoplasie scrotale).

A partir de la revue de la littérature sur la reprotoxicité du DnBP, et en s'appuyant sur les données les plus récentes et les VTR déjà disponibles, trois études réalisées chez l'animal ont été retenues. Elles sont jugées représentatives des effets reprotoxiques observés. Elles sont synthétisées ci-après.

Une première étude, sur deux générations [Wine, 1997], a été réalisée chez des rats Sprague-Dawley exposés en alimentation continue à 52, 256 et 509 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez les mâles et 80, 385 et 794 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez les femelles. Les indices d'accouplement, de gestation et de fertilité de la génération F1 sont inférieurs à ceux de F0 à la dose la plus forte. A partir de 256 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez les mâles et 385 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez les femelles, de nombreuses anomalies des organes reproducteurs sont observées (diminution du poids de ces organes, lésions dégénératives de l'épithélium germinale testiculaire, hyperplasie interstitielle, absence ou hypoplasie de l'épididyme). Les effets au niveau de la seconde génération (F2) sont identiques mais plus sévères et apparaissent aux premières doses testées, dès 52 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pour les mâles et 80 mg.kg⁻¹.j⁻¹ pour les femelles (en l'absence de toxicité maternelle pour la première dose testée). Aucun NOAEL n'a pu être identifié pour la génération F2.

La deuxième étude a été réalisée chez le rat Sprague-Dawley exposé *in utero* via gavage de la mère du 12^{ème} au 21^{ème} jour de la gestation à 0 – 0,5 – 50 – 100 et 600 mg.kg⁻¹.j⁻¹ [Mylchreest *et al.*, 2000]. Chez les nouveau-nés mâles, de nombreuses lésions de l'appareil reproducteur mâle sont observées dans le groupe de dose le plus élevé. Dès 100 mg.kg⁻¹.j⁻¹, une absence de régression des mamelons est constatée. Cet effet apparaît comme un marqueur représentatif d'une altération de la différenciation sexuelle. Le NOAEL a été identifié à 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

La troisième étude [Lee *et al.*, 2004] a été réalisée chez le rat Sprague-Dawley exposé *in utero* et pendant la lactation (exposition des mères par voie orale à partir du 15^{ème} jour de gestation et jusqu'au 21^{ème} jour après la mise bas) aux doses de 0 – 2 – 24 – 234 et 1137 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Une réduction des spermatozoaires testiculaires est constatée au 21^{ème} jour postnatal pour la première dose testée (2 mg.kg⁻¹.j⁻¹), ainsi qu'une hypoplasie des bourgeons alvéolaires chez les femelles. Le LOAEL a été identifié à 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹ sur l'observation de la diminution spermatozoaire et des dysplasies mamelonnaires chez les nouveau-nés mâles ou femelles. Aucun NOAEL n'a pu être identifié.

2.4 Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action proposé pour le DnBP implique une perturbation endocrinienne avec une action anti-androgénique liée à une diminution importante de la sécrétion de testostérone et une atteinte des cellules de Sertoli.

Au vu de l'ensemble des données disponibles, il apparaît que les effets reprotoxiques et développementaux observés chez l'animal ne puissent pas être écartés chez l'homme.

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

3.1 Choix de l'effet critique

Les effets sur le développement les plus pertinents sont observés au niveau de l'appareil reproducteur mâle. L'atteinte est aussi bien histologique que fonctionnelle. L'effet critique retenu, à savoir **l'atteinte histologique et fonctionnelle de l'appareil reproducteur mâle**, est en cohérence avec l'ensemble des rapports publiés et ne porte *a priori* pas à discussion. Ces atteintes sont diverses en fonction des études : lésions testiculaires (troubles de la migration, lésions dégénératives des tubes séminifères, diminution des spermatoocytes, hyperplasie des cellules interstitielles), lésions de l'épididyme, des vésicules séminales, diminution de la distance ano-génitale, augmentation du taux d'hypospadias et persistance des mamelons. Ces effets signent un mécanisme de perturbation endocrinienne.

3.2 Choix de l'étude

Les trois études retenues décrites ci-dessus sont jugées de bonne qualité et ont été également choisies par des organismes internationaux reconnus dans le cadre de construction de VTR. Les trois expérimentations animales sont conduites selon des protocoles rigoureux : « *National Toxicology Program's, R.A.C.B. Protocol* » pour les deux premières, « *Animal Care and Use Committee of the National Institute of Health Sciences* » (Japan) pour la troisième. Ces études ont donc été classées 1 sur la base de la classification de Klimisch et peuvent être retenues pour la construction d'une VTR. Les deux plus anciennes sont analysées dans le rapport d'évaluation des risques de l'Union Européenne. Elles répondent à une problématique « effets sur le développement » avec des protocoles d'études différents. Seule l'étude de Lee (2004) prend en compte une période d'exposition jusqu'à la fin de la lactation (PND21). Les différences d'effets observés sur les testicules entre l'étude de Mylchreest (2000) et l'étude de Lee (2004) pourraient être liées à l'utilisation de tests non comparables. De même, dans l'étude de Wine (1997), les effets sur le testicule ne sont pas étudiés pour des doses inférieures à 250 à 400 mg.kg⁻¹.j⁻¹, ce qui peut expliquer les différences de résultats avec Lee.

Le choix final entre les trois études repose essentiellement sur :

- La qualité de l'étude (Klimisch 1) ;
- L'observation d'effets signant une perturbation endocrinienne en l'absence d'une toxicité maternelle ;
- L'utilisation d'une période de sensibilité critique ;
- Le suivi post-traitement comprenant une comparaison de l'évolution des signes de toxicité ;
- A critères égaux, l'identification du LOAEL le plus faible.

Ainsi, en l'absence d'éléments permettant de prédire l'impact sanitaire des modifications observées chez l'animal pour l'Homme à long terme, et bien que l'étude de Lee ne permette pas d'identifier un NOAEL, le CES estime prudent de retenir l'étude de **Lee et al. (2004)** comme étude source.

Dans cette étude, des rates Sprague-Dawley (8 animaux par dose) ont été exposées via la nourriture du quinzième jour de gestation (GD15) jusqu'au 21^{ème} jour après la parturition (PND21),

soit la fin de la lactation. L'alimentation est supplémentée en DnBP à des concentrations égales à 0 – 20 – 200 – 2000 et 10000 ppm, correspondant à des doses de 0 – 2 – 24 – 234 et 1137 mg.kg⁻¹.j⁻¹ en poids corporel. Une réduction des spermatoctes testiculaires est constatée au 21^{ème} jour après la naissance dès la concentration de 20 ppm (2 mg.kg⁻¹.j⁻¹) chez 50 % des mâles, de même que des changements au niveau des glandes mammaires chez les nouveau-nés de sexe féminin (hypoplasie des bourgeons alvéolaires). Les effets retenus sont une **diminution spermatocytaire chez le mâle (p<0,05) et des hypoplasies mamelonnaires chez les femelles (p<0,05)**.

3.3 Choix de la dose critique

Dans l'étude retenue, la diminution spermatocytaire et les lésions dysplasiques mamelonnaires sont constatées dès la plus faible dose testée, correspondant à un **LOAEL de 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹**. Aucun NOAEL ne peut donc être proposé. On peut simplement préciser que le NOAEL se situe entre 0 et 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹.

Pour déterminer ce LOAEL, les auteurs ont utilisé plusieurs méthodes d'analyse en fonction des données. Les seuils de 0,05 et de 0,01 ont été retenus pour la significativité des résultats. Les lésions histopathologiques ont été comparées par un test de Fischer exact et la sévérité des lésions histopathologiques avec un test de Mann-Whitney (U).

Dans le cadre de l'évaluation des risques du DnBP, l'Union Européenne a proposé un LOAEL de 50 mg.kg⁻¹.j⁻¹ en se basant sur l'étude de Wine (1997) (UE, 2003). D'autres études non référencées dans le rapport européen ont été publiées depuis [Mylchreest, 2000 ; Lee *et al.*, 2004]. Dans le cadre de ce travail, en tenant compte des éléments récents, un LOAEL 25 fois plus faible, de 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹, est proposé pour la construction de la VTR sur la base de l'étude de Lee (2004).

Pendant la phase pilote, l'Afsset a proposé de construire une BMDL en considérant la diminution des spermatoctes. La réponse obtenue est de type dichotomique (effet / absence d'effet). Plusieurs modèles ont été testés, dont les modèles gamma (modèle stochastique) et weibull (modèle de distribution) qui s'appliquent pour des réponses dichotomiques. Un niveau de réponse (BMR) de 10 % en « extra risk » a été retenu (l'extra risk correspond à l'augmentation du risque comparativement à la probabilité de ne pas être affecté dans le groupe témoin, réponse vraisemblablement plus conservatrice). On obtient une BMD₁₀ à 0,08 mg.kg⁻¹.j⁻¹ et une BMDL₁₀ à 4,4.10⁻⁵ mg.kg⁻¹.j⁻¹ (les résultats de l'ensemble de la démarche sont détaillés dans le « document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques », annexe 3).

Le LOAEL avait été fixé à 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹. Ce LOAEL correspond à une incidence de réponse (pour la réduction du développement spermatocytaire) de 50 %, ce qui est très élevé. Il est donc logique que la BMD₁₀ soit très inférieure à ce LOAEL (10 % de réponse). La BMDL est par ailleurs très éloignée de la BMD ; ceci est lié au fait que le nombre de points et le nombre d'animaux testés sont faibles et le niveau d'effet constaté élevé et éloigné de la BMR retenue (10 %). Ces limites méthodologiques ne permettent pas de retenir la BMDL comme dose critique.

3.4 Choix des facteurs d'incertitude

- UF_A : variabilité inter-espèces : le facteur retenu est le facteur maximal de 10. Cela est justifié par les résultats de l'étude épidémiologique de Swan *et al.* (2005) qui semble confirmer que les effets anti-androgéniques mis en évidence chez l'animal peuvent également se produire chez l'Homme. Si la glucuroconjugaison du monobutylphtalate apparaît plus élevée chez l'Homme que chez le rat, on peut penser que la substance est plus rapidement détoxifiée chez l'Homme, mais en l'absence d'éléments quantitatifs plus précis, il reste prudent de considérer un facteur inter-espèce par défaut.

- UF_H : variabilité intra-espèce : le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la plus grande variabilité au sein de l'espèce humaine.
- UF_L : utilisation d'un LOAEL : les préconisations de l'Afsset sont un facteur 3 ou 10 en fonction des cas. Dans le cas du DnBP, deux arguments sont avancés :
 - L'un en faveur de l'application d'un facteur de 3, justifié par l'utilisation de l'étude ayant identifié un LOAEL très faible par rapport aux autres études (dans les autres études, les NOAEL peuvent être jusqu'à 25 fois plus élevés), suggérant que les effets retenus sont très sensibles ;
 - L'autre en faveur de l'application d'un facteur de 10, justifié par la grande variabilité au sein de l'étude comme en témoigne la différence observée entre les valeurs de la BMD et de la BMDL, et l'absence de NOAEL. En outre, la première dose testée entraîne déjà un effet chez 50 % des animaux pour la diminution spermatocytaire et 100 % des animaux pour la dysplasie mamelonnaire.

Le CES choisit au final l'application d'un facteur UF_L de 10, en accord avec la méthode de construction de VTR reprotoxiques de l'Afsset.

4 Conclusions de l'expertise collective

- ▶ Le métabolisme du DnBP chez l'Homme et l'animal est globalement similaire avec production d'un monoester commun (MBuP). Cependant il existe des différences quantitatives de glucuroconjugaison des métabolites monoesters du DnBP chez le rat et chez l'Homme. Le CES attire l'attention sur l'absence de connaissances sur l'impact de ces différences et leurs conséquences éventuelles sur des variations de toxicité inter-espèces ;
- ▶ Le mécanisme avancé (effet anti-androgénique lié à une à une diminution importante de la sécrétion de testostérone avec principalement une atteinte des cellules de Sertoli) est plausible chez l'Homme ;
- ▶ Les effets observés chez l'animal sont des effets sur le développement de l'appareil reproducteur mâle telles que lésions testiculaires ou de l'épididyme, diminution de la distance ano-génitale, augmentation du taux d'hypospadias, persistance des mamelons ;
- ▶ Les effets observés chez l'animal paraissent pertinents pour l'Homme. Ce point est argumenté par une étude récente chez l'homme qui a mis en évidence une relation entre l'exposition aux phtalates des mères pendant la grossesse et l'atténuation de l'action androgénique chez les bébés mâles.

Le CES propose ainsi la construction d'une VTR spécifique aux effets sur le développement pendant la gestation, pour une exposition subchronique.

| -- Di-n-butyl phtalate (DnBP) 84-74-2 -- | | | |
|---|--|--|---|
| Effet critique | Dose critique* | UF | VTR |
| Diminution spermatocytaire et dysplasies mamelonaires observées dans la descendance | Absence de NOAEL LOAEL = 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹ | 1000 | VTR = 2 µg.kg⁻¹.j⁻¹ |
| Etude de toxicité prénatale orale chez le rat Sprague-Dawley (GD15-PND21) | Pas de construction de BMDL | UF _A 10 UF _H 10 UF _L 10 | Niveau de confiance Recueil de données : fort Etude : moyen (incertitude +) Dose critique : moyen (absence de NOAEL) VTR : moyen |
| Lee <i>et al.</i> 2004 | | | |

LOAEL = Lowest Observed Adverse Effect Level; NOAEL = No Observed Adverse Effect Level; BMD = Benchmark Dose; UF = *uncertainty factors* (facteurs d'incertitude). UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_L : utilisation d'un LOAEL plutôt que d'une dose sans effet, GD : Gestation Day, PND : Post Natal Day.

* Facteurs de conversion temporels, coefficients allométriques : NEANT.

La VTR est construite sur la base des connaissances actuelles. Dans le cadre des phtalates, dont les plus connus ont une toxicité sur le développement liée à leur caractère perturbateur endocrinien, les niveaux de connaissances sont différents d'une substance individuelle à l'autre. Les études toxicologiques n'étant pas conduites selon les mêmes protocoles pour tous les phtalates, les LOAEL et les NOAEL issus de ces études ne peuvent être mis en regard et les VTR proposée ne peuvent être le reflet direct de la toxicité de ces substances. Ainsi, bien que le benzylbutylphtalate (BBP) et le DnBP aient probablement une toxicité similaire, la VTR proposée pour le DnBP est plus faible que celle du BBP.

5 Bibliographie

- Lee K.Y., Shibutani M., Tagagi H., Kato N., Tagigami S., Uneyama C., Hirose M. Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation. *Toxicology*. 2004 ; 203 : 221-258.
- Mylchreest E., Wallace D.G., Cattley R.C., Foster P.M.D. Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to di(n-butyl) phthalate during late gestation. *Toxicological Sciences*. 2000 ; 55 : 143-151.
- Saillenfait A.M., Laudet-Hesbert A. Phtalates. *EMC-Toxicologie Pathologie 2* (2005) :1-13.
- Swan S.H., Main K.M., Liu F., Stewart S.L., Kruse R.L., Calafat A.M., Mao C.S., Redmon J.B., Ternand C.L., Sullivan S., Teague J.L. The Study for Future Families Research Team. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environmental Health Perspectives*. 2005 ; 113 : 1056-1061.
- Union européenne. 2003. Risk Assessment Report. Di-n-butyl phthalate (DBP). Institute for Health and Consumer Protection. European Chemical Bureau. Existing Substances. 1st Priority List. Volume 29. EUR 19840 EN. 165 pages.
- Wine R.N., Li L.L., Barnes L.H., Gulati D.K., Chapin R.E. Reproductive Toxicity of Di-n-butylphthalate in a Continuous Breeding Protocol in Sprague-Dawley Rats. *Environmental Health Perspectives*. 1997 ; 105(1) : 102-107.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



MINISTÈRE DE LA SANTÉ, DE LA JEUNESSE ET
DES SPORTS

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

Direction générale de la santé

Direction de la prévention des pollutions et des
risques

COURRIER REÇU LE

30 JUIL. 2007

2672

Paris le

25 JUIL. 2007

Le Directeur général de la santé

Le Directeur de la prévention des pollutions
et des risques

à

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

GL ←

Objet : Valeurs toxicologiques de référence

Copie : DGT

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Le Directeur général de la santé

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

Didier HOUSSIN

Didier EYSSARTIER

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

Laurent MICHEL

Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport

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

Notes



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