

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Proposition de VTR par voie respiratoire pour le trichloroéthylène

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juillet 2018

Édition scientifique



Proposition de VTR par voie respiratoire pour le trichloroéthylène

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juillet 2018

Édition scientifique

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 31 juillet 2018

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

relatif à la proposition de VTR par voie respiratoire pour le trichloroéthylène
(CAS n°79-01-6)

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 le 18 mars 2016 par la Direction générale de la santé (DGS) pour la réalisation de l'expertise suivante : sélection ou élaboration des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour le trichloroéthylène, le perchloroéthylène, l'ammoniac et quatre chloroanilines.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Dans le cadre des évaluations de risques réalisées dans le traitement des dossiers relatifs aux installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) ou à la gestion des sites et sols pollués, les Agences régionales de santé (ARS) ou les bureaux d'étude adressent à la DGS des questions relatives au choix des VTR de certaines substances chimiques. Ce choix est effectué suivant les modalités définies dans la note d'information N° DGS/EA1/DGPR/2014/307 du 31 octobre 2014 relative aux modalités de sélection des substances chimiques et de choix des VTR pour mener les évaluations des risques sanitaires dans le cadre des études d'impact et de la gestion des sites et sols pollués. Dans cette note, l'Anses a été désignée comme agence d'expertise pour le choix et la construction des VTR.

L'Anses a ainsi été saisie par la DGS le 18 mars 2016 pour proposer des VTR par inhalation aiguë, subchronique et chroniques (à seuil et/ou sans seuil) pour le trichloroéthylène, le perchloroéthylène, l'ammoniac et quatre chloroanilines. Le présent avis de l'Anses et le rapport d'expertise collective qui l'accompagne ont pour objet de présenter les propositions de VTR pour le trichloroéthylène (TCE).

Une 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 des substances. 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 par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2017).

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

- recenser et analyser les données de toxicité disponibles, sur la base d'études épidémiologiques et/ou expérimentales,
- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique ;
- identifier l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance,
- choisir d'une étude clé de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;
- définir une dose critique chez l'Homme ou l'animal à partir de cette étude, éventuellement dans le cas d'une dose critique obtenue chez l'animal, ajuster cette dose à l'Homme ;
- pour une VTR à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude à cette dose critique de manière à dériver une VTR applicable à l'ensemble de la population concernée ;
- pour une VTR sans seuil, réaliser une extrapolation linéaire à l'origine afin de déterminer un excès de risque unitaire.

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes.

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 collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » jusqu'en août 2017 puis par le CES « Valeurs sanitaires de référence ». Les travaux ont été présentés aux CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Ils ont été adoptés par le CES « Valeurs sanitaires de référence » réuni le 22 juin 2018.

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 de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

■ Synthèse des données toxicologiques

- Toxicocinétique

Chez l'animal comme chez l'Homme, le TCE est absorbé rapidement quelle que soit la voie d'exposition. Par inhalation, l'absorption du TCE à travers l'épithélium alvéolaire est rapide et peut être importante (28-80%).

Chez l'Homme et l'animal et quelle que soit la voie d'absorption, le TCE est largement distribué dans tout l'organisme *via* la circulation sanguine. Compte tenu de sa forte liposolubilité, il est majoritairement retrouvé dans le tissu adipeux, mais également dans le foie, les reins, le système

nerveux et le système cardiovasculaire. Il passe la barrière placentaire, la barrière hémato-encéphalique et se retrouve dans le lait maternel.

Chez l'Homme, 40 à 75% de TCE inhalé est métabolisé. Le TCE est rapidement métabolisé par deux voies, principalement au niveau du foie :

- *via* un métabolisme oxydatif (implication des cytochromes P450) qui conduit à la formation de métabolites majoritaires : trichloroéthanol (TCOH) (libre et conjugué sous forme de glucuronide) et acide trichloroacétique (TCA). Ces métabolites sont excrétés principalement dans l'urine. Ces voies métaboliques peuvent induire de manière minoritaire la formation d'acide dichloroacétique (DCA), d'acide monochloroacétique, d'acide formique, de monoxyde de carbone (CO), d'acide oxalique et de N-(hydroxyacétyl)-aminoéthanol.
- par conjugaison au glutathion dans une moindre mesure, qui conduit à la formation de S-1,2-dichlorovinylcystéine (DCVC) qui peut alors être transformée selon différentes voies soit en N-acétyl-dichlorovinylcystéine (NAcDCVC), soit en chlorure de thioacyle ou encore le chlorothiocétène.

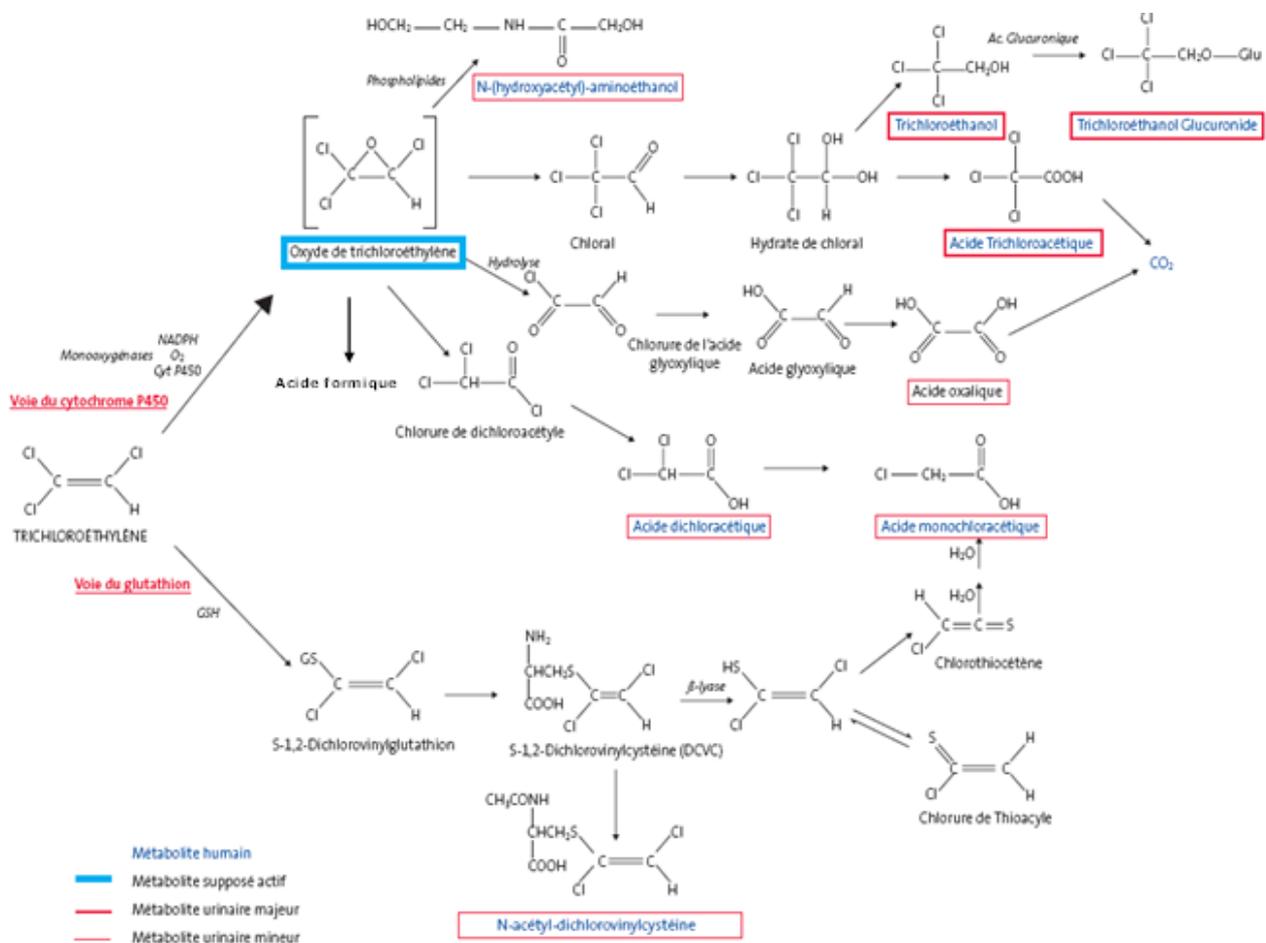


Figure 1 : Métabolisme du TCE (INRS, 2011)

Les voies d'élimination du TCE sont qualitativement identiques chez l'animal et l'Homme, quelle que soit la voie d'exposition. Le TCE inchangé (10-28% de la dose) et les métabolites volatils (CO₂, CO, TCOH) sont éliminés dans l'air expiré. Les métabolites principaux, le TCOH et le TCA, sont éliminés dans les urines (48-85%) et les fèces. Les métabolites mineurs (DCA, acide monochloroacétique, N-(hydroxyacétyl)aminoéthanol, NAcDCVC) sont éliminés dans l'urine.

- Toxicité aiguë

Chez l'Homme exposé par inhalation à de fortes concentrations en TCE, la principale cible est le système nerveux central (SNC). En effet, lors d'expositions massives (plusieurs centaines de ppm), des états d'excitation suivis d'une dépression du SNC (syndrome ébrieux, puis coma) ont été mis en évidence. Des lésions neurologiques, notamment au niveau des nerfs optique et trijumeau, ont également été rapportées à la suite d'expositions accidentelles et seraient imputables au dichloroacétylène, produit de dégradation du TCE en milieu basique.

Au cours de plusieurs études menées, chez des volontaires sains dans des conditions contrôlées mais sur un effectif réduit, ont été observés des effets neurologiques mineurs (étourdissements, fatigue, somnolence) à partir de 200 ppm.

Les études expérimentales confirment que les effets sur le SNC sont les plus sensibles suite à une exposition au TCE par inhalation.

- Irritation

Le TCE est un irritant cutané et oculaire et est classé en ce sens par le règlement (CE) 1272/2008 « CLP » (Skin Irrit. 2, H315 ; Eye Irrit. 2, H319).

- Toxicité subchronique et chronique

Chez l'Homme, les expositions subchroniques et chroniques par inhalation sont principalement à l'origine des effets suivants :

- effets rénaux (altérations du tubule proximal) ;
- atteintes neuropsychiques (syndrome psychosomatique avec anesthésie, céphalées, troubles de la mémoire, etc. et syndrome végétatif avec sueurs, troubles fonctionnels, vertiges, etc.) ;
- effets hépatiques (nécrose hépatique, stéatose hépatique, cirrhose, hépatite, syndrome de Stevens-Johnson, ictères jusqu'à des défaillances hépatiques sévères, augmentation des concentrations de cholestérol et d'acide biliaire) ;
- effets immunologiques (immunosuppression, auto-immunité).

Chez l'animal, le TCE induit principalement :

- des effets neurologiques : diminution de l'attention, perturbation des cycles de sommeil, augmentation de l'activité motrice spontanée, diminution des durées de sommeil, altération des neurotransmetteurs, perte auditive. Les résultats des études animales corroborent les études réalisées chez l'Homme s'agissant des effets neurologiques ;
- des effets rénaux : le TCE induit une toxicité sur les tubules rénaux ;
- des effets hépatiques (nécroses hépatocellulaires, hépatomégalie, infiltration graisseuse, augmentation du poids du foie, hypertrophie des cellules centrolobulaires, diminution des concentrations plasmatiques de cholestérol et de l'albumine).

- Reprotoxicité et effets sur le développement

Chez l'homme, plusieurs études en milieu professionnel ont observé une altération de la morphologie des spermatozoïdes, une hyperzoospermie, une baisse de la libido et une altération de la fertilité. Quelques effets ont été observés chez des femmes exposées au TCE ou à des mélanges de solvants dont le TCE, tels qu'une augmentation des perturbations du cycle menstruel ou une diminution de la fertilité.

Chez le rongeur, plusieurs études récentes indiquent que l'exposition au TCE :

- perturbe la spermatogenèse (altération du compte spermatique, de la morphologie et de la motilité des spermatozoïdes) ;
- entraîne des modifications des concentrations sériques de testostérone ;

- entraîne des lésions histopathologiques au niveau des testicules et de l'épididyme ;
- diminue la capacité de fertilisation des spermatozoïdes (tests de fécondation *in vitro* avec spermatozoïdes de mâles exposés) ;
- diminue la capacité des ovocytes à être fécondés chez la femelle (tests de fertilisation *in vitro* avec ovocytes de femelles exposées).

Concernant les effets sur le développement, certaines études chez l'Homme et des données animales évoquent la possibilité d'une augmentation de l'incidence des malformations cardiaques sans aboutir à des preuves suffisantes d'un lien entre l'exposition au TCE et ces malformations.

- Génotoxicité

Sur la base des résultats des tests de génotoxicité, le TCE possède un faible pouvoir mutagène *in vitro* et *in vivo*, le TCE semble être faiblement génotoxique pour les cellules somatiques.

- Cancérogénicité

De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre l'exposition au TCE et la survenue de divers cancers. Le TCE serait principalement associé à la survenue de **cancers rénaux, hépato-biliaires** et de **lymphomes non-Hodgkinien (LNH)** (CE, 2004 ; NRC, 2006 ; IRSST, 2010 ; US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014 ; CIRC, 2014a ; NTP, 2015). Des excès de risques de cancer des poumons, du col de l'utérus, des seins, de la prostate et de l'œsophage ont également été observés dans quelques études. Cependant, selon le CIRC, ces études ne sont pas suffisantes pour réaliser une évaluation de ces cancers (CIRC, 2014a).

En 2012, le **CIRC** a classé le TCE dans le **groupe 1** (cancérogène pour l'Homme) grâce à des preuves épidémiologiques soutenues par des données mécanistiques (CIRC, 2014a). Les études cas-témoins fournissent des preuves concluantes d'une association entre l'exposition au TCE et le risque d'adénocarcinome rénal (Charbotel *et al.*, 2006 ; Moore *et al.*, 2010). Les études de cohorte, ainsi qu'une méta-analyse, ont rapporté une modeste augmentation du risque relatif de cancer rénal (Boice *et al.*, 2006 ; Zhao *et al.*, 2005 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2001, Scott et Jinot, 2011). Chez l'Homme, le niveau de preuve est limité pour l'association entre les lymphomes non-Hodgkiniens, le cancer hépatique et l'exposition au TCE. Le TCE est un cancérogène multi-site chez le rat et la souris exposés par voie orale et respiratoire : une augmentation des tumeurs hépatiques, rénales, pulmonaires, des testicules et du système hématopoïétique ont été observées dans plusieurs études.

En 2001, la **Commission européenne** a classé le TCE dans le **groupe 2, devenu 1B selon le règlement n°1272/2008, dit CLP**, pour les cancers du rein et les lymphomes non-Hodgkiniens en se basant sur des études mettant en évidence des cancers du rein chez le rat, également observés dans des études épidémiologiques montrant une association entre exposition au TCE et cancer du rein (Henschler *et al.*, 1995 ; Vamvakas *et al.*, 1998 ; Blair *et al.*, 1998) et les lymphomes non-Hodgkiniens (Axelson *et al.*, 1994 ; Anttila *et al.*, 1995 ; Blair *et al.*, 1998 ; Boice *et al.*, 1999).

Chez l'animal, seules les études de Henschler *et al.* (1980), de Fukuda *et al.* (1983) et de Maltoni *et al.* (1986,1988), disponibles dans la littérature, ont étudié la cancérogénicité pour la voie respiratoire. Elles mettent en évidence des tumeurs pulmonaires, hépatiques et des lymphomes chez la souris et des tumeurs rénales et des cellules de Leydig chez le rat Sprague-Dawley.

■ VTR aiguë

- Choix de l'effet critique

Chez l'Homme, une exposition court-terme par inhalation au TCE entraîne des effets sur le **système nerveux central (SNC)**. En effet, lors de fortes expositions (plusieurs centaines de ppm),

un état d'excitation suivi d'une dépression du SNC (syndrome ébrieux, puis coma) ont été mis en évidence. Plusieurs études menées chez des volontaires dans des conditions contrôlées ont observé des effets neurologiques mineurs (étourdissements, fatigue, somnolence) à partir de 200 ppm (Stewart *et al.*, 1970 et 1974 ; Vernon et Ferguson, 1969 et 1970). Aucun signe significatif de dépression du SNC n'a été observé à cette concentration et à des concentrations inférieures, hormis dans l'étude de Salvini *et al.* (1971) qui a observé une altération des performances à 110 ppm. Les effets observés aux plus faibles concentrations, dès 27 ppm, sont des effets subjectifs (sommolence) signalés par des volontaires, sans modification significative dans des tests neurocomportementaux (Nomiyama et Nomiyama, 1977).

Chez l'animal, de nombreuses études font également état de la **neurotoxicité** du TCE. Ces effets semblent particulièrement précoces, avec des NOAEC¹ allant de 120 à 2 400 ppm. La difficulté est souvent de conclure quant à leur significativité ou leur nocivité, les études étant souvent anciennes et réalisées avec des protocoles différents de ceux qui seraient utilisés aujourd'hui.

Quelques rapports ont observé des effets hépatiques et rénaux, mais de façon plus ponctuelle, et à des concentrations élevées (2 800 ppm) (CE, 2004 ; US EPA, 2008 et 2011 ; ATSDR, 2014).

En conclusion, l'effet critique retenu est l'effet sur le système nerveux central (SNC).

- Analyse des VTR existantes

Aucune VTR aiguë par inhalation n'étant disponible, le CES s'oriente donc vers la construction d'une telle VTR.

- Construction

Les effets sur le SNC ont été observés aussi bien dans les études chez l'animal que chez l'Homme.

Chez l'animal, les études disponibles ne sont pas exploitables pour construire une VTR (gamme de doses testées inadéquate, difficulté d'interprétation des résultats, mauvaise description des protocoles expérimentaux, etc.).

Les études humaines mettant en évidence des effets neurotoxiques consécutifs à une exposition à court terme sont des rapports d'accidents et des études contrôlées. Les études indiquent plutôt l'absence d'effets aigus chez l'Homme à des niveaux de concentrations inférieures à 100 ppm et pour des expositions de 1 à 6 heures. Il n'est pas possible d'utiliser les rapports d'accidents qui concernent souvent un seul individu exposé à des niveaux de concentrations très élevées, pour construire une VTR. Il existe quelques études contrôlées chez l'Homme explorant principalement les effets sur le système nerveux central. L'étude de Winneke *et al.* (1982) est une des seules études à mettre en évidence des effets objectifs (modification des potentiels évoqués auditifs) à une concentration relativement faible (50 ppm). Elle est confortée par l'étude de Salvini *et al.* (1971) dans laquelle une diminution de la performance dans tous les tests neurocomportementaux a pu être observée chez des étudiants et des travailleurs à 110 ppm. Néanmoins, ces études sont anciennes et souffrent de limites méthodologiques telles qu'un faible nombre de sujets, une absence de groupe témoin, un faible nombre de doses testées, etc. qui rendent difficiles leur exploitation pour la construction d'une VTR aiguë.

Le CES n'a pas identifié, dans la littérature, de données quantitatives de qualité suffisante sur des expositions court terme par inhalation pour construire une VTR aiguë, malgré l'existence d'effets neurologiques. Ainsi, le CES ne propose pas de VTR aiguë.

¹ No observed adverse effect level = dose sans effet toxique observé

■ VTR subchronique et chronique

- Choix de l'effet critique

Le TCE est capable d'exercer des effets sur le **système immunitaire**, aussi bien chez l'Homme que chez l'animal, qui vont toucher non seulement les cellules/tissus de l'immunité mais également d'autres tissus/organes et être donc à l'origine d'effets systémiques.

Les effets immunosuppresseurs du TCE, observés chez l'Homme et l'animal, ont été mis en évidence par des impacts divers et variés du TCE sur le système immunitaire. Les conséquences sur la susceptibilité aux infections virales et bactériennes ou sur la survenue de tumeurs d'origine virale n'apparaissent cependant pas claires. Ces effets ne sont donc pas pertinents pour être retenus comme effet critique.

Les effets auto-immuns sont aussi observés chez l'Homme et l'animal. Une association entre exposition au TCE et survenue de sclérodémie a été retrouvée chez des personnes avec production d'auto-anticorps antinucléaires. Ces personnes présentaient une atteinte cutanée sévère et généralisée accompagnée d'atteintes systémiques. Les effets observés ici sont bien des effets néfastes. Cependant, les études chez l'Homme sont souvent réalisées dans le cadre de multi-expositions d'origine professionnelle ce qui complique l'interprétation quant au rôle direct du TCE. Les études réalisées chez l'animal ont été faites sur des modèles de rongeurs susceptibles de développer des maladies auto-immunes et les effets biologiques mesurés dans ces études restent souvent ponctuels, rendant ces études inutilisables comme étude clé. Ainsi, ces effets ne peuvent être retenus comme effets critiques.

Les **effets neurologiques** observés sont un trouble de la conduction nerveuse sur le nerf trijumeau et des atteintes de la fonction vestibulaire. Les atteintes de la fonction vestibulaire ne peuvent pas être retenues, malgré la qualité des études les décrivant, car il s'agit principalement d'études de toxicité aiguë avec des doses élevées (plusieurs milliers de ppm).

Les troubles de la conduction nerveuse ont été observés à la fois chez l'Homme et l'animal. Les études chez l'Homme sont également de bonne qualité, mais les facteurs de confusion (exposition à d'autres solvants), ou l'absence de données d'exposition sont des facteurs limitants. Une étude chez l'animal (Arito *et al.*, 1994) de bonne qualité ne présente pas de relation dose-effet pour une durée d'exposition de 6 semaines et ne permet pas la construction d'une VTR chronique.

Les **effets rénaux**, principalement au niveau tubulaire, apparaissent également à des doses faibles. Chez l'Homme, les études mettent en évidence des modifications de marqueurs urinaires, notamment d'atteintes tubulaires. Les études par inhalation chez l'animal montrent des effets tels qu'une augmentation du poids des reins chez les rats et les souris dès 75 ppm (étude sur 30 jours, Kjellstrand *et al.*, 1983b) et une caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales dès 300 ppm chez des rats mâles exposés 104 semaines (Maltoni *et al.*, 1988). Les mêmes lésions tubulaires rénales que celles décrites par Maltoni *et al.* (1988) chez le rat mâle (cytomégalie et caryomégalie) ont également été observées, mais à des doses plus fortes, chez les rats femelles et chez des souris des deux sexes suite à une exposition par voie orale (NCI, 1976 ; NTP, 1988 et 1990).

Le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est lié aux métabolites issus de la voie de conjugaison du glutathion tels que la DCVC et ses métabolites. Sur la base des prédictions issues des modèles PBPK chez la souris, le rat et l'Homme, il apparaît que la conjugaison du TCE par le glutathion serait plus importante chez l'Homme que chez l'animal ce qui suggère une plus forte néphrotoxicité chez l'Homme par rapport aux rongeurs (US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014).

Le CES retient l'effet rénal comme effet critique pour la construction des VTR chroniques et subchroniques en raison d'un mécanisme de néphrotoxicité bien identifié, d'une apparition de cet effet à de faibles doses chez l'animal, de la plausibilité de sa transposition à l'Homme et de l'existence d'une étude de bonne qualité (Maltoni *et al.*) corroborée par plusieurs autres études chez deux espèces animales (rat et souris).

- Analyse des VTR chroniques existantes

Quatre organismes ont proposé des VTR chroniques à seuil pour une exposition par inhalation : RIVM (2001), OEHHA (2003), US EPA (2011) et ATSDR (2014). Les VTR du RIVM et de l'OEHHA n'ont pas été retenues car :

- elles ne sont pas basées sur les effets rénaux ;
- elles sont fondées sur des effets pouvant signer une adaptation à l'exposition au TCE et non un effet néfaste selon le RIVM (modification du ratio entre le poids du foie et le poids corporel), et des effets subjectifs qui pourraient correspondre aussi bien à des effets subaigus qu'à des effets chroniques pour l'OEHHA (symptômes neurologiques légers non spécifiques et non objectivés).

En 2011, l'US EPA a proposé une « reference concentration » (RfC). Cette VTR a été retenue par l'ATSDR dans son document de travail (ATSDR, 2014). La méthode de construction employée par l'US EPA pour dériver sa RfC consiste à calculer *a priori* des RfC candidates puis à rechercher ensuite l'étude correspondant à la RfC la plus faible. L'approche retenue ne suit pas les guides méthodologiques de construction de VTR de l'US EPA et n'est pas en accord avec la démarche proposée par l'Anses pour l'élaboration des VTR (Anses, 2013). Du fait de cette méthode de construction atypique, le choix des études clés n'a pas été fondé sur leur qualité ou la pertinence des effets critiques, mais sur la plus faible valeur de RfC obtenue. L'US EPA a établi finalement sa RfC en faisant la moyenne de 2 RfC candidates établies à partir de 2 études différentes, de qualité limitée et mettant en évidence des effets différents. Le CES VSR considère que faire la moyenne d'études de qualité limitée ne permet pas d'obtenir une valeur finale de meilleure qualité.

Sachant que la méthode de construction de l'US EPA n'est pas validée par le CES VSR et que la qualité des études retenues est limitée, la RfC de l'US EPA n'est pas retenue, **le CES s'oriente donc vers la construction d'une VTR chronique par inhalation.**

- Construction d'une VTR chronique
 - Choix de l'étude clé

Les études réalisées chez l'Homme concernant la toxicité rénale souffrent de nombreuses limites, incluant notamment une mauvaise évaluation de l'exposition (peu de mesures et protocoles peu détaillés, ignorance des facteurs de co-exposition), un intervalle d'exposition très large, un faible nombre de sujets, une absence éventuelle de groupe témoins, des difficultés d'interprétation des résultats, ... Ainsi, elles ont été jugées de qualité insuffisante par le CES en vue de dériver une VTR.

Seules deux études chez l'animal (rat et souris) exposé par voie respiratoire ont mis en évidence des effets rénaux suite à une exposition subchronique ou chronique par inhalation : Kjellstrand *et al.* (1983b) et Maltoni *et al.* (1988). Après l'analyse des études animales, le CES a retenu l'étude de Maltoni *et al.* (1988). Les auteurs ont observé une caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales à 300 et 600 ppm chez des rats mâles (résultats significatifs pour les deux doses, $p < 0,01$). Cet effet n'a pas été observé chez les témoins historiques et les rats exposés pendant 8 semaines. Les auteurs indiquent que cette atteinte rénale peut être considérée comme un effet précurseur du cancer du rein et a été observée chez les rats présentant un adénocarcinome rénal.

Bien qu'étant observé uniquement chez les rats mâles, le CES a donc retenu la caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales mis en évidence dans l'étude de Maltoni *et al.* (1988) à 300 ppm.

- Choix de la dose critique

Les données de l'étude de Maltoni *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre la caryocytomégalie et l'exposition au TCE. Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel proposé par

l'EFSA (EFSA, 2017) qui utilise Proast (Proast software version 65.7) élaboré par le RIVM pour l'élaboration d'une « Benchmark Concentration » (BMC).

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Ce niveau ou ce pourcentage est appelé « Benchmark Response » (BMR) et correspond à un excès de risque de 10% (BMR recommandé par l'Anses et l'EFSA pour les données quantales). Le niveau de confiance associé à la BMCL est de 90%.

L'EFSA propose d'avoir recours à l'approche par « model averaging » (basée sur la publication de Wheeler and Bailer, 2008) qui permet de prendre en considérations l'ensemble des modèles qui décrivent les données expérimentales et de les pondérer en fonction de leur AIC (critère d'Akaike) (les modèles qui décrivent le mieux les données bénéficient d'une pondération plus forte : plus l'AIC est faible plus l'ajustement est jugé de bonne qualité).

La concentration critique calculée est **$BMC_{10\%L_{90\%}} = 238$ ppm**

- Ajustement temporel

Les rats sont exposés durant 5 jours par semaine et 7 heures par jour pendant 104 jours (soit vie entière pour le rongeur). Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué : **$BMC_{10\%L_{90\%}}_{ADJ} = 238 \times 5/7 \text{ jours} \times 7/24 \text{ heures} = 49,6$ ppm**

- Ajustement dosimétrique

Plusieurs modèles PBPK ont été développés et permettent de modéliser le devenir du TCE dans les organismes chez le rat et l'Homme pour différentes voies d'exposition. Le modèle PBPK de Covington *et al.* (2006) a été utilisé.

L'utilisation du modèle PBPK permet de convertir la dose externe d'exposition chez l'animal en une dose interne chez l'animal. En l'occurrence, il s'agit d'une concentration sanguine de S-1,2-dichlorovinylcystéine (DCVC) (exprimée en mg/L), la DCVC étant probablement le métabolite responsable des effets néphrotoxiques. Il est fait l'hypothèse que la concentration interne chez le rat est équivalente à la concentration interne chez l'Homme. Inversement, le modèle PBPK humain va convertir la dose interne d'exposition en une dose externe chez l'Homme qui constituera la **$BMC_{10\%L_{90\%}}_{ADJ}$ équivalente humaine ($BMC_{10\%L_{90\%}}_{ADJ\ HEC}$).**

Ainsi, pour une concentration critique calculée (**$BMC_{10\%L_{90\%}}_{ADJ} = 49,6$ ppm**) chez le rat, la concentration sanguine associée de DCVC est de $9,4 \cdot 10^{-4}$ mg/L chez le rat. A cette dose interne, correspond une concentration externe d'exposition au TCE de 43,7 ppm chez l'Homme (concentration équivalente humaine = HEC). Ainsi, une exposition journalière chez le rat à une concentration de TCE de 49,6 ppm correspondrait à une concentration d'exposition chez l'Homme de 43,7 ppm.

Le CES retient donc comme $BMC_{10\%L_{90\%}}_{ADJ\ HEC}$ de 43,7 ppm fondée sur la DCVC.

- Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la **$BMC_{10\%L_{90\%}}_{ADJ\ HEC}$** a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants aboutissant à un **facteur d'incertitude global de 75** :

- Variabilité inter-espèces (UF_A) : 2,5. L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide du modèle PBPK de Covington *et al.* (2006). 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 (OMS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).
- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10. Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 est utilisée.

- Insuffisance des données (UF_D) : 3. Même si le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est lié aux métabolites issus de la voie de conjugaison au glutathion tels que la DCVC et ses métabolites, des doutes persistent quant à l'existence d'un mécanisme d'action impliquant l'acide formique dû à la formation de TCOH ou de TCA à partir de TCE. Ainsi, par précaution, le CES propose d'appliquer un UF_D de 3.
 - Proposition de VTR chronique et niveau de confiance
VTR = $BMC_{10\%}L_{90\% HEC} / UF = 0,58 \text{ ppm, soit } 3,2 \text{ mg.m}^{-3}$

Un niveau de confiance global **moyen/fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (fort), le choix de l'effet critique et le mode d'action (moyen), le choix de l'étude clé (fort) et le choix de la dose critique (moyen).

- Proposition de VTR subchronique et niveau de confiance
Seul l'ATSDR a proposé une VTR subchronique, à savoir la VTR chronique de l'US EPA (non retenue par le CES, cf. § « Analyse des VTR chroniques existantes »).

Les résultats de la modélisation cinétique de TCE indiquent que la concentration sanguine de DCVC atteint un état d'équilibre après environ 2 semaines d'exposition continue à la $BMCL_{ADJ HEC}$ et qu'une durée d'exposition plus longue ne génère *a priori* pas de concentration sanguine de DCVC plus élevée. Ce résultat appuie l'approche récente de l'ATSDR d'adopter la VTR chronique en tant que VTR subchronique. En effet, une exposition continue à la $BMCL_{ADJ HEC}$ entre 21 jours et 90 jours génère une concentration sanguine stable de DCVC chez l'Homme. L'intensification des effets rénaux est par conséquent improbable.

Les experts du CES retiennent donc comme VTR subchronique, la VTR chronique sur la base de l'étude de Maltoni *et al.* (1988) avec comme effet critique des effets rénaux (caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales).

Le niveau de confiance global attribué à cette VTR est le même que celui de la VTR chronique, à savoir **moyen/fort**.

■ VTR cancérigène

- Choix de l'effet critique

Chez l'Homme, le TCE est associé à la survenue de divers cancers, principalement les cancers rénaux, les lymphomes non-Hodgkiniens (LNH) et les cancers hépato-biliaires.

Une association significative entre l'incidence de cancer du rein et l'exposition au TCE a été observée dans de nombreuses études épidémiologiques, aussi bien dans des études de cohorte en milieu professionnel (Zhao *et al.*, 2005 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Henschler *et al.*, 1995), dans des études cas-témoins (Moore *et al.*, 2011 ; Charbotel *et al.*, 2006 ; Brüning *et al.*, 2003 ; Pesch *et al.*, 2000 ; Dosemeci *et al.*, 1999 ; Vamvakas *et al.*, 1998) que dans des méta-analyses (Karami *et al.*, 2012 ; Scott et Jinot, 2011 ; Kelsch *et al.*, 2010).

Le CIRC (2012) et le NTP (2015) ont conclu que le niveau de preuve concernant l'association entre les LNH et l'exposition au TCE était limité. Les études épidémiologiques fournissent également des preuves limitées d'une association causale entre les expositions au TCE et les cancers hépato-biliaires.

Chez l'animal, les études montrent que le TCE est un cancérigène multi-site (augmentation des tumeurs du foie, des reins, des poumons, des testicules).

Ainsi, le CES retient le cancer du rein comme effet critique.

- Choix de l'hypothèse de construction

Certains auteurs estiment qu'il existe un seuil en-dessous duquel aucune atteinte rénale n'est attendue. Cependant, les experts rappellent d'une part la complexité et les incertitudes existantes sur le mécanisme d'action génotoxique du TCE, et d'autre part la formation de métabolites génotoxiques avérés (principalement au niveau rénal). Certaines études soulignent d'ailleurs la difficulté à l'heure actuelle de déterminer quels sont les métabolites responsables des effets génotoxiques du TCE et quelle est leur pertinence chez l'Homme (Caldwell et Keshava, 2006). L'ensemble de ces données doit donc conduire à une grande prudence et il n'est pas possible de tirer des conclusions quant à la présence d'une dose d'exposition en-dessous de laquelle il n'y aurait pas d'effet génotoxique.

En 2014, l'ECHA a réalisé une synthèse des approches utilisées par les institutions et organismes internationaux (OMS, UE, AGS, SCOEL, US EPA, Anses²) pour proposer une VTR cancérigène ou DNEL³. En tenant compte de la formation de plusieurs métabolites génotoxiques et de l'absence d'explication adéquate d'un mode d'action non génotoxique du TCE, tous les groupes d'experts, à l'exception du SCOEL (2009), considèrent qu'une approche sans seuil est la plus appropriée pour l'estimation du risque de cancer.

Par conséquent, le CES retient **une approche sans seuil** pour la construction de VTR cancérigène par voie respiratoire pour le TCE.

L'AGS a proposé de considérer une relation dose-réponse sans seuil mais sub-linéaire pour le risque de cancers rénaux induits par le TCE sur la base de données mécanistiques. En effet, de fortes expositions professionnelles incluant des pics d'exposition conduisent à des effets cytotoxiques responsables des lésions tubulaires rénales qui contribueraient de manière décisive à l'apparition de cancers, en initiant une prolifération cellulaire. Le risque de cancer du rein est considéré comme plus faible en dessous des niveaux d'exposition entraînant une réponse cytotoxique. Ainsi, une relation linéaire surestimerait le risque pour de faibles niveaux d'exposition. Bien que l'approche de l'AGS ait l'avantage de coller à la réalité épidémiologique et prenne en compte les hypothèses mécanistiques, les études utilisées pour justifier le point d'inflexion de la courbe présentent des limites et leur utilisation est discutable. De ce fait, **le CES retient une approche linéaire sans seuil pour construire sa VTR cancérigène qui a l'avantage d'être plus protectrice.**

- Analyse des VTR existantes

Cinq organismes ont proposé des VTR cancérigènes : Santé Canada (1993), OEHHA (2009), OMS (2000), US EPA (2011) et ECHA (2014).

Les VTR proposées par Santé Canada, l'OEHHA et l'OMS sont fondées sur des tumeurs observées chez l'animal (tumeurs hépatocellulaires ou pulmonaires chez des souris mâles et tumeurs pulmonaires et lymphomes malins chez des souris femelles, tumeurs des cellules de Leydig chez des rats). Ces VTR n'ont pas été retenues par le CES VSR car :

- Elles ne sont pas basées sur les cancers rénaux ;
- Le mécanisme d'action des tumeurs hépatiques et pulmonaires observées chez les souris n'est pas transposable à l'Homme ;
- Concernant les lymphomes observés dans l'étude d'Henschler *et al.* (1980), des limites méthodologiques (2 doses testées, nombre d'animaux insuffisants) rendent difficiles l'interprétation des résultats ;
- Les tumeurs des cellules de Leydig apparues dans l'étude de Maltoni *et al.* (1988) ne sont pas des effets pertinents à retenir pour la construction d'une VTR, car elles sont

² OMS : Organisation Mondiale pour la Santé ; UE : union Européenne ; SCOEL : Scientific Committee on Occupational Exposure Limits ; AGS : Ausschuss für Gefahrstoffe = Comité des substances Dangereuses allemand ; US EPA : United States Environmental Protection Agency

³ Derived no effect level

spécifiques de l'espèce et du genre. En effet, il n'a pas été mis en évidence de cancer des testicules chez l'homme (US EPA, 2011). En revanche, des études épidémiologiques ont mis en évidence des cancers de la prostate chez l'homme et des seins et de l'utérus chez la femme. Chez l'animal, les études expérimentales ont mis en évidence des cancers de la prostate et des testicules chez les mâles et des cancers de l'utérus, des ovaires, des glandes mammaires, de l'appareil génital chez les femelles. Seule l'étude de Maltoni *et al.* (1988) a mis en évidence une augmentation des tumeurs des cellules de Leydig chez le rat suite à une exposition par voie respiratoire pendant 104 semaines.

En 2014, l'ECHA a proposé une DNEL pour la population générale fondée sur l'approche de l'AGS. L'objectif de l'AGS était de proposer une valeur limite d'exposition professionnelle pour le TCE à titre d'exemple au sein d'un guide méthodologique. L'approche de l'AGS a l'avantage de coller à la réalité épidémiologique et prendre en compte les hypothèses mécanistiques. Cependant, la DNEL de l'ECHA n'a pas été retenue par le CES VSR car le modèle proposé par l'AGS présente de nombreuses limites :

- L'étude qui a servi à l'AGS pour estimer le niveau d'exposition (Roller, 2005) n'a pas été publiée, ce qui entraîne un manque de transparence pour comprendre la démarche de calcul de la dose cumulée sur 40 ans de 3000 ppm-années, servant de calcul du point de départ à 75 ppm.
- Les études utilisées, Selden *et al.* (1993) et Green *et al.* (2004), pour justifier le point d'inflexion de la courbe à 6 ppm présentent plusieurs limites (doute sur la signification des résultats par les auteurs, pas d'analyse des co-expositions, niveaux d'exposition peu décrits, soutien financier par une association industrielle).
- Leur utilisation par l'AGS est discutable.
 - o Dans leur étude, Green *et al.* (2004) considèrent que l'augmentation de la N-acétyl- β -D-glucosaminidase (NAG) et de l'albuminurie, bien que significative, ne constitue pas un effet adverse, et concluent donc en une absence d'effet en deçà de 250 ppm. L'AGS considère au contraire que l'augmentation de ces marqueurs, bien que non corrélée aux taux urinaires de TCA donc à l'exposition au TCE, constitue un effet critique.
 - o La NAG n'est pas le marqueur rénal le plus spécifique et le plus précoce à retenir comme le soulignent Green *et al.* Quant à l'albuminurie, elle ne signe pas directement une atteinte tubulaire proximale.
 - o Considérant cet effet critique, l'AGS prend comme LOAEC la moyenne d'exposition des travailleurs exposés de l'étude de Green *et al.*, soit 32 ppm, ce qui traduit mal l'absence de relation dose-effet entre 0,5 et 252 ppm.
 - o Dans l'étude de Selden *et al.*, l'AGS a considéré uniquement les 23 individus présentant les plus faibles niveaux d'exposition parmi les 29 exposés, sans fournir d'explication sur l'exclusion des 6 valeurs les plus hautes. On note qu'en se fondant sur la même étude, le SCOEL a retenu les 25 valeurs les plus hautes.

L'excès de risque unitaire (ERU) par voie respiratoire de l'US EPA, fondé sur des cancers rénaux observés dans l'étude de Charbotel et ajusté sur le risque potentiel de tumeurs multisites (LNH, tumeurs hépatiques), a été analysé par les experts du GT VTR et du CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » (mandat 2010-2013) en 2013 et n'avait, alors, pas été retenu (Anses, 2013). Dans le cadre de ses nouveaux travaux, le CES VSR a réanalysé cet ERU par inhalation et les données sources. Il a été conclu que les principales limites identifiées en 2013 pouvaient être levées. Notamment, le fait que l'ERU soit élaboré à partir d'une estimation de l'exposition représentant une exposition agrégée (voie respiratoire et une certaine pénétration cutanée due au dépôt de vapeurs de solvant sur la peau) ne permet pas de rejeter cet ERU (cf. Tableau 46 du rapport). Par contre, le CES ne retient pas l'ERU combiné pour le cancer du rein, les lymphomes non-hodgkiniens et les cancers du foie et des voies biliaires proposé par l'US EPA

dans la mesure où les seules tumeurs pour lesquelles il y a des preuves épidémiologiques suffisantes d'un excès de risque associé à l'exposition au TCE et pour lesquelles la relation dose-réponse est bien caractérisée sont les tumeurs rénales. **Ainsi, le CES recommande l'utilisation de la VTR de l'US EPA fondée sur les cancers rénaux.**

L'US EPA recommande également l'utilisation d'un facteur d'incertitude spécifique aux enfants (ADAF) lors du calcul de risque. Le CES considère qu'il n'y a pas de preuve d'une sensibilité particulière des enfants aux effets cancérogènes du TCE. En conséquence, **aucun facteur d'incertitude spécifique aux enfants ne nécessite d'être utilisé.**

- Proposition de VTR cancérogène et niveau de confiance
ERU cancer rénal = $5,49 \cdot 10^{-3} \text{ (ppm)}^{-1}$, soit $10^{-6} \text{ (}\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\text{)}^{-1}$

Un niveau de confiance global **moyen/fort** a été attribué à cette VTR en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (fort), le choix de l'effet critique et le mode d'action (fort), le choix de l'étude clé (moyen) et le choix de la dose critique (fort).

Le rapport a été validé à la majorité des experts présents (14 sur 15 experts présents). Un expert a choisi de s'abstenir : « L'expertise qui a été menée par le CES est complète et de bonne qualité, toutefois, il aurait été intéressant de pouvoir proposer une valeur utilisable pour des expositions aiguës. La démarche a bien été discutée lors des différentes étapes de genèse du dossier mais n'a pas permis d'aboutir à un consensus en raison de la faiblesse des données disponibles. »

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 « Valeurs sanitaires de référence » qui portent sur la proposition de valeurs toxicologiques de référence par voie respiratoire pour le trichloroéthylène.

Pour rappel, dans le cadre des VTR et en lien avec les scénarios généralement pris en compte en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses distingue trois types de durée d'exposition :

- Pour les expositions aiguës, de 1 à 14 jours ;
- Pour les expositions subchroniques, de 15 à 364 jours ;
- Pour les expositions chroniques, à partir de 365 jours.

Concernant la VTR cancérogène sans seuil, le CES souhaite attirer l'attention sur le fait que l'ERU de l'US EPA est retenu, sans ajustement supplémentaire sur la survenue d'autres cancers, et sans recommandations de l'utilisation de facteur d'incertitude spécifique aux enfants (ADAF) lors du calcul de risque.

Tableau 1 : VTR par voie respiratoire pour le trichloroéthylène

Type de VTR	Organisme	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
VTR aiguë	Le CES n'a pas identifié, dans la littérature, de données quantitatives de qualité suffisante sur des expositions court terme par inhalation pour construire une VTR aiguë malgré l'existence d'effet neurologique. Ainsi, le CES ne propose pas de VTR aiguë.				
VTR subchronique	Anses	Reprise de la VTR chronique			3,2 mg.m ⁻³ (0,58 ppm)
					Niveau de confiance moyen/fort
VTR chronique	Anses	Effet rénal observé chez des rats mâles Maltoni <i>et al.</i> (1988)	NOAEC = 100 ppm LOAEC = 300 ppm BMC _{10%} L _{90%} = 238 ppm <u>Ajustement temporel</u> BMC _{10%} L _{90%} ADJ = 238 x 5/7 x 7/24 = 49,6 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{10%} L _{90%} ADJ = 43,7 ppm (DCVC)	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _D = 3	3,2 mg.m ⁻³ (0,58 ppm)
					Niveau de confiance moyen/fort
VTR cancérogène	US EPA	Carcinome rénal Charbotel <i>et al.</i> (2006)	Régression linéaire avec utilisation de tables de survie américaine, estimation de taux d'incidence « de fond » de cancer rénal, et conversion des données d'exposition professionnelle en exposition environnementale → POD = LEC ₀₁ = 1,82 ppm Extrapolation linéaire à l'origine → ERU _{cancer rein} = 5,49.10 ⁻³ (ppm) ⁻¹		10 ⁻⁶ (µg.m ⁻³) ⁻¹ 5,49.10 ⁻³ (ppm) ⁻¹
					Concentrations associées à plusieurs niveaux de risques : 10 ⁻⁴ : 100 µg.m ⁻³ 10 ⁻⁵ : 10 µg.m ⁻³ 10 ⁻⁶ : 1 µg.m ⁻³
					Niveau de confiance moyen/fort

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Valeur toxicologique de référence, VTR, trichloroéthylène, 79-01-6, inhalation, aiguë, subchronique, chronique

Toxicological reference value, TRV, trichloroethylene, 79-01-6, inhalation, acute, subchronic, chronic

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Proposition de VTR par voie respiratoire pour le trichloroéthylène
(CAS n°79-01-6)

Saisine 2016-SA-0116

RAPPORT **d'expertise collective**

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

Juin 2018

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, trichloroéthylène, 79-01-6, inhalation, aiguë, subchronique, chronique

Toxicological reference value, TRV, trichloroethylene, 79-01-6, inhalation, acute, subchronic, chronic

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

Mme Anne CHEVALIER - Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire - Compétences : épidémiologie

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

M. Sami HADDAD – Professeur titulaire à l'Université de Montréal – Compétences : Modélisation PBPK, toxicocinétique, exposition des polluants chimiques, IBE

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail en Corrèze

Mme Anne PLATEL – Maître de conférences à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille – Laboratoire de Toxicologie Génétique, Institut Pasteur de Lille - Compétences : Toxicologie, Génotoxicité, QSAR

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Lorraine à Vandoeuvre-les-Nancy – Laboratoire CALBINOTOX, EA 7488 - Pharmacien neurobiologiste - Compétences : Neurotoxicité, polluants environne taux, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

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

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- CES « Valeurs sanitaires de référence » – 18 janvier, 9 mars, 4 mai, 21 et 22 juin 2018

Président

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail en Corrèze

Membres

M. Marc BARIL – Professeur associé à l'Université de Montréal – Compétences : Chimiste toxicologue, hygiène industrielle

M. Stéphane BINET – Pharmacien toxicologue à la direction scientifique à l'INRS – Compétences : toxicologie générale et industrielle

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

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

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

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à Santé publique France (anciennement Institut
de Veille sanitaire) – Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie

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

M. Rex FITZGERALD – Expert en toxicologie réglementaire au Centre Suisse de Toxicologie
Humaine Appliquée - Compétences : toxicologie de la reproduction, neurotoxicité du
développement, évaluation des risques humains

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

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

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France (anciennement
Institut de Veille sanitaire) – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

Mme Cécile KAIRO – Évaluateur de risques sanitaires à Santé publique France (anciennement
Institut de Veille sanitaire) Compétences : Docteur en pharmacie spécialisé en environnement,
toxicologie générale et évaluation des risques

Mme Laila LAKHAL – Ingénieur INRA unité Toxalim - Compétences : Toxicologie, métabolisme,
perturbateurs endocriniens

M. Frédéric LIRUSSI – Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier (MCU-PH) à
l'UFR des Sciences de Santé & CHU de Dijon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie
analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

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

Mme Florence PILLIERE – Conseiller médical en toxicologie à l'INRS – Compétences : médecine
du travail, toxicologie, IBE

Mme Anne PLATEL – Maître de conférences à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et
Biologiques de Lille – Laboratoire de Toxicologie Génétique, Institut Pasteur de Lille -
Compétences : Toxicologie, Génotoxicité, QSAR

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à la Faculté des Sciences et Technologies de
l'Université de Lorraine à Vandoeuvre-les-Nancy – Laboratoire CALBINOTOX, EA 7488 -
Pharmacien neurobiologiste - Compétences : Neurotoxicité, polluants environne taux,
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 – Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Docteur es science,
physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

M. Claude VIAU – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, IBE, hygiène industrielle, métrologie des polluants

M. Raymond VINCENT - Retraité (anciennement Chargé de mission à la Direction Déléguée aux Applications (INRS)) - Compétences : chimie, métrologie des polluants, évaluation des risques professionnels

- Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence – 9 juin, 20 octobre, 30 mars, 11 mai et 22 juin 2016

Président

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

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue chez Nexter Group – Médecine du travail, toxicologie, reprotoxicité

Membres

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au CEA, Centre de Cadarache. Docteur es science – Toxicologie « in vitro », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail 19

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

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

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

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

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

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

PARTICIPATION ANSES

Coordination

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Pharmacien toxicologue – Anses

Contribution scientifique

Mme Camille BECHAUX – Coordinatrice de projets scientifiques - Anses

Mme Pauline GUILOU - Toxicologue - Anses

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Pharmacien toxicologue – Anses

Mme Fatoumata SISSOKO - Toxicologue - Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PÉTRÉ – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	10
Liste des tableaux.....	14
Liste des figures	15
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise.....	16
1.1 Contexte.....	16
1.2 Objet de la saisine.....	16
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	17
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.	17
2 Informations générales.....	18
2.1 Identification de la substance	18
2.2 Propriétés physico-chimiques	18
2.3 Classification.....	19
2.4 Sources et utilisations	19
3 Synthèse des données toxicologiques	20
3.1 Toxicocinétique.....	20
3.1.1 Absorption	20
3.1.2 Distribution	20
3.1.3 Métabolisme.....	21
3.1.4 Élimination	23
3.1.5 Modèles pharmacocinétiques et pharmacodynamiques	23
3.2 Toxicité aiguë et subaiguë par inhalation.....	24
3.2.1 Effets aigus	24
3.2.1.1 Chez l'Homme.....	24
3.2.1.2 Chez l'animal.....	29
3.2.2 Irritation	34
3.2.3 Sensibilisation respiratoire et cutanée	36
3.3 Toxicité subchronique et chronique par inhalation.....	37
3.3.1 Effets neurologiques	37
3.3.1.1 Trouble de la conduction nerveuse	39
3.3.1.2 Effets sur la fonction cognitive.....	40
3.3.1.3 Effets psychomoteurs.....	40
3.3.1.4 Effets sur l'humeur et troubles du sommeil.....	40
3.3.1.5 Effets sur la vision/l'audition	41
3.3.1.6 Maladies neuro dégénératives	43

3.3.1.7	Mode d'action	44
3.3.2	Effets rénaux	45
3.3.3	Effets hépatiques	52
3.3.4	Effets immunologiques	57
3.3.5	Autres effets	59
3.4	Toxicité sur la reproduction et le développement et effets endocriniens	61
3.4.1	Effets sur la fertilité	61
3.4.2	Effets sur le développement	67
3.5	Génotoxicité	72
3.5.1	In vitro	72
3.5.2	In vivo	75
3.5.3	Etudes chez l'Homme	77
3.5.4	Génotoxicité des métabolites	78
3.5.5	Conclusion	83
3.6	Cancérogénicité	84
3.6.1	Chez l'Homme	84
3.6.1.1	Cancer rénal	85
3.6.1.2	Cancers hépatiques et des voies biliaires	92
3.6.1.3	Lymphome non-Hodgkinien	96
3.6.2	Chez l'animal	101
3.6.3	Mode d'action	104
3.7	Population sensible	108
4	Recueil des valeurs toxicologiques de référence par inhalation	111
4.1	VTR aiguës par inhalation	111
4.2	VTR subchroniques par inhalation	111
4.3	VTR chroniques par inhalation	111
4.3.1	VTR à seuil	111
4.3.1.1	VTR de l'US EPA	111
4.3.1.2	VTR de l'OEHHA	114
4.3.1.3	VTR de l'ATSDR	115
4.3.1.4	VTR du RIVM	115
4.3.2	VTR sans seuil pour les effets cancérogènes	116
4.3.2.1	VTR de Santé Canada	116
4.3.2.2	VTR de l'OEHHA	117
4.3.2.3	Valeur guide de l'OMS	119
4.3.2.4	VTR de l'US EPA	120
4.3.2.5	VTR de l'ECHA	124
4.4	Synthèse des VTR existantes par voie respiratoire	129
5	Proposition de VTR aiguë	132
5.1	Choix de l'effet critique	132

5.2	Analyse des VTR aiguës existantes.....	132
5.3	Construction d'une VTR aiguë	133
6	Proposition de VTR subchronique et chronique à seuil	135
6.1	Choix de l'effet critique.....	135
6.2	Analyse des VTR chroniques existantes.....	136
6.3	Construction d'une VTR chronique	138
6.3.1	Choix de l'étude clé.....	138
6.3.2	Choix de la concentration critique.....	140
6.3.3	Ajustement temporel.....	141
6.3.4	Ajustement dosimétrique	141
6.3.5	Choix des facteurs d'incertitude.....	142
6.3.6	Proposition de VTR chronique	143
6.3.7	Niveau de confiance	143
6.4	Proposition de VTR subchronique.....	144
7	Proposition de VTR chronique sans seuil.....	145
7.1	Choix de l'effet critique.....	145
7.2	Choix de l'hypothèse de construction.....	145
7.3	Analyse des VTR chroniques sans seuil existantes.....	146
7.4	Proposition d'une VTR cancérogène et niveau de confiance	153
8	Conclusions du CES.....	154
9	Bibliographie TCE	157
9.1	Publications.....	157
9.2	Normes.....	166
ANNEXES	167	
Annexe 1 : Lettre de saisine.....		168
Annexe 2 : Recherche bibliographique complémentaire sur la période 2014 - 2018 – mots clés		170
Annexe 3 : Limites et points forts des études épidémiologiques observant un lien entre l'exposition au TCE et le cancer rénal (NTP, 2015 ; US EPA, 2011 ; CIRC, 2014)		171

Sigles et abréviations

8-OHdG : 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine

ADAF : Age-Dependent Adjustments factors

ADH : Alcool déshydrogénase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AEGL : Acute Exposure Guideline Levels

Afsset : Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail

AGS : Ausschuss für Gefahrstoffe (= Comité des substances Dangereuses)

AIC : Akaike's Information Criteria (= critère d'Akaike)

ALDH : Aldéhyde déshydrogénase

ALAT : Alanine Amino Transférase

ALP : Alkaline Phosphatase

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ARS : Agence régionale de santé

ASAT : Aspartate Amino Transférase

ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry

BAER : Brainstem Auditory Evoked Response (potentiels évoqués auditifs du tronc cérébral)

BMC : Benchmark Concentration

BMCL : Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark concentration

BMR : Benchmark Response

BPL : Bonnes pratiques de laboratoires

BUN : Blood Urea Nitrogen

CAS : Chemical Abstract Service

CDHS : California Department of Health Services

CES : Comité d'Experts Spécialisés

CHL : cellule pulmonaire de hamster chinois

CHO : cellule ovarienne de hamster chinois

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer (= IARC : International Agency for Research on Cancer)

CL₅₀ : Concentration Létale 50 : concentration létale qui provoque 50% de mortalité dans la population d'organismes étudiée

CLP : Classification, Labelling, Packaging (classification et étiquetage des produits)

CO₂ : dioxyde de carbone

CO : monoxyde de carbone

COV : composé organique volatil

cRFC : Reference Concentration Candidate

CT : Concentration Tumorigène

CYP : cytochrome P450

DCA : acide dichloroacétique

DCAC : chlorure de dichloroacétyle

DCVC : 1,2-dichlorovinylcystéine
DCVG : S-(1,2-dichlorovinyl)-glutathion
DECOS : Dutch Expert Committee on Occupational Safety
DGS : Direction générale de la santé
DNEL : Derived No-Effect Level (= Dose dérivée sans effet)
EC₀₁ : Effective Concentration (= concentration correspondant à un extra risk de 1%)
ECG : Electrocardiogramme
ECHA : European Chemicals Agency (= Agence européenne des substances Chimiques)
EEG : Electroencéphalogramme
EFSA : European Food Safety Authority (=Autorité européenne de sécurité des aliments)
ERU : Excès de Risque Unitaire
FDR : fecundability density ratio
γGT: gamma glutamyl-transférase
G6PD : Glucose 6-phosphate déshydrogénase
GABA : Acide γ-aminobutyrique
GD : gestation day (= jour de gestation)
GSH : glutathion
GST : glutathion-S-transférase
GST-α : glutathion-S-transférase-α
GSTT1 : glutathion-S-transférase thêta 1
HDL : High Density Lipoprotein
HEC : Human Equivalent Concentration (= Concentration Equivalente Humaine)
HR : Hazard Ratio
I2PP2A : Inhibiteur 2 de la protéine phosphatase 2A
IC_{95%} : Intervalle de confiance à 95%
ICPE : Installation classée pour la protection de l'environnement
IDR : incidence density ratio
Ig : Immunoglobuline
IL : Interleukine
IMC : Indice de Masse Corporelle
INERIS : Institut National Environnement Industriel et Risques
INF : interféron
INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité
INSPQ : Institut National de Santé Publique du Québec
LEC : Lowest Effective Concentration : Plus basse concentration correspondant à un extra risk de 1%
LOAEC : Lowest Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)
LNH : Lymphomes Non-Hodgkiniens
LMS : Linearized Multistage (= Modèle multi-étape linéarisé)
MRL : Maximum Risk Level (= Niveau de risque maximum)
NAcDCVC : N-acétyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cystéine
NAG : N-acétyl-β-D-glucosaminidase
NICNAS : National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme

N₂O : protoxyde d'azote

NOAEC : No Observed Adverse Effect Concentration (= Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)

NRC : National Research Council

NTP : National Toxicological Program

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

OEHHA : Office of Environmental Health Hazard Assessment (équivalent à Cal-EPA : California Environmental Protection Agency)

OMS : Organisation Mondiale de la santé

OPPTS : Office of Prevention Pesticides and Toxic Substances

OR : Odd Ratio

PBPK : Physiologically-Based Pharmacokinetic (=Modèle pharmacocinétique à base physiologique)

pc : poids corporel

p-cRFC : Reference Concentration Candidate Provisoire

PND: post-natal day (= jour post-natal)

POD : point de départ

PP2A : protéine phosphatase 2A

PPAR : Peroxisome proliferator-activated receptor

ppb : partie par milliard

ppm : partie par millions

REL : Reference Exposure Limit (= Limite d'Exposition Référence)

RfC : Reference Concentration

RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (= Institut National Hollandais pour la Santé Publique et l'Environnement)

RR : Risque Relatif

SCE : (= essai d'échanges de chromatides sœurs)

SCOEL : Scientific Committee on Occupational Exposure Limits (=Comité Scientifique en matière de Limites d'Exposition Professionnelle à des agents chimiques)

SD : standard deviation

SHE : cellules embryonnaires de hamster Syrien

SIR : Standardized Incidence Ratio (=ratio standardisé d'incidence)

SMR : Standardized Mortality Ratio (=ratio de mortalité standardisée)

SNC : Système nerveux central

SPR : Standardized Prevalence Ratio (=ratio standardisé de prévalence)

SRRE : Summary Relative Risk Estimates

SVHC : Substance very high concern

TBARS : thiobarbituric acid reactive substances

TCA : acide trichloroacétique

TCE : trichloroéthylène

TCOH : trichloroéthanol

TERA :

TLS : synthèse translésionnelle

TSEP : potentiel évoqué somatosensoriel trigéminal

UDS : unscheduled dna synthesis

UE : Union Européenne

UF : Facteur d'incertitude (= Uncertainty Factor)

UF_A : Facteur d'incertitude inter-espèces

UF_D : Facteur d'incertitude au manque de données

UF_H : Facteur d'incertitude interindividuel

UF_{H-TK} : Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel

UF_{H-TD} : Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude interindividuel

UF_{B/L} : 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 : United States Environmental Protection Agency (États-Unis)

VGAI : Valeur Guide de Qualité d'Air Intérieur

VHL : Von Hippel-Lindau

VLCT : Valeur Limite Court Terme

VLEP : Valeur limite d'exposition professionnelle

VTR : Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Valeurs de référence élaborées ou choisies par l'Anses	17
Tableau 2 : Identification de la substance	18
Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques (INERIS, 2017 ; INRS, 2011)	18
Tableau 4 : Synthèse des études humaines contrôlées (NICNAS, 2000 ; US EPA, 2011)	25
Tableau 5 : Valeurs de CL ₅₀ (NICNAS, 2000 ; US EPA, 2011)	29
Tableau 6 : Synthèse des études de toxicité aiguë et subaiguë chez l'animal par voie respiratoire (CE, 2004 ; US EPA, 2011)	31
Tableau 7 : Synthèse des effets neurologiques observés dans des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques (inhalation) au TCE (US EPA, 2011)	38
Tableau 8 : Synthèse des effets sur la vision/l'audition observés dans des études animales pour des expositions subchroniques et chroniques (inhalation) au TCE (US EPA, 2011)	42
Tableau 9 : Synthèse des études subchroniques et chroniques chez l'animal par voie respiratoire mettant en évidence des effets au niveau du système rénal (US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)	49
Tableau 10 : Synthèse des études humaines induisant un effet hépatique, lors d'expositions subchroniques et chroniques (inhalation) au TCE (NRC, 2006 ; US EPA, 2011)	54
Tableau 11 : Synthèse des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques par inhalation mettant en évidence des effets sur la fertilité masculine (DECOS, 2003 ; US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)	62
Tableau 12 : Synthèse des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques par inhalation au TCE mettant en évidence des effets sur la fertilité féminine (ATSDR, 2014)	63
Tableau 13 : Synthèse des études de reprotoxicité chez l'animal par voie respiratoire (DECOS, 2003 ; US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)	65
Tableau 14 : Synthèse des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques par inhalation au TCE mettant en évidence des effets sur le développement (US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)	69
Tableau 15 : Synthèse des études de développement chez l'animal par voie respiratoire (ATSDR, 2014)	71
Tableau 16 : Résultats des études de cohorte pour le cancer du rein (NRC, 2006 ; US EPA, 2011)	85
Tableau 17 : Résultats des études cas-témoins pour le cancer du rein (NRC, 2006 ; US EPA, 2011 ; CIRC, 2014a ; Purdue <i>et al.</i> , 2017)	88
Tableau 18 : Résumé des résultats de la méta-analyse réalisée par Kelsh <i>et al.</i> (2010)	91
Tableau 19 : Résultats des études de cohorte pour les cancers du foie et des voies biliaires (NRC, 2006 ; US EPA, 2011)	94
Tableau 20 : Résultats des études de cohorte pour le lymphome non-hodgkinien (NRC, 2006 ; US EPA, 2011, CIRC, 2014a)	97
Tableau 21 : Résultats des études cas-témoins pour le lymphome non-hodgkinien (NRC, 2006 ; US EPA, 2011 ; CIRC, 2014a)	98
Tableau 22 : Résultats des études de cancérogenèse animales par inhalation pour le TCE	103
Tableau 23 : Mode d'action possible et événements clés pour les cancers hépatiques induits par le TCE (NTP, 2015)	107
Tableau 24 : VTR intermédiaires du TCE pour des expositions par inhalation	111
Tableau 25 : p-cRfC pour les effets critiques candidats	113
Tableau 26 : VTR à seuil par inhalation (US EPA, 2011)	114
Tableau 27 : VTR chroniques à seuil du TCE pour des expositions par inhalation (OEHHA, 2008)	115

Tableau 28 : VTR chroniques à seuil du TCE pour des expositions par inhalation (RIVM, 2001)	116
Tableau 29 : Construction de CT _{0,05} par Santé Canada (Santé Canada, 1993)	117
Tableau 30 : Données sur les relations dose-réponse utilisées pour l'évaluation quantitative du risque par le CDHS (OAHHE, 2009)	118
Tableau 31 : Construction de l'inhalation unit risk par l'OEHHA (OEHHA, 2009)	118
Tableau 32 : Excès de risque unitaire du TCE pour des expositions par inhalation construite par l'OMS (OMS, 2000 et 2010)	120
Tableau 33 : ERU candidats calculés à partir d'études de cancérogénèse chez le rongeur	120
Tableau 34 : Relation dose-réponse entre l'exposition cumulée au TCE et l'apparition de cancer rénal (Charbotel <i>et al.</i> , 2006 ; US EPA, 2011)	121
Tableau 35 : Relation entre l'exposition cumulée au TCE et les cancers du rein (Charbotel <i>et al.</i> , 2006)	122
Tableau 36 : Analyse du risque de cancer du rein en fonction de l'exposition aux huiles de coupe et au TCE (Charbotel <i>et al.</i> , 2009)	122
Tableau 37 : Excès de risque unitaire élaboré par l'US EPA (2011)	124
Tableau 39 : DNEL proposée par l'ECHA (2014) pour des effets cancérogènes	128
Tableau 40 : VTR disponibles pour une exposition aiguë par inhalation	129
Tableau 41 : VTR disponibles pour des expositions subchronique/chronique par inhalation	130
Tableau 42 : VTR sans seuil disponibles pour des expositions chroniques par inhalation	131
Tableau 43 : Limites des études épidémiologiques court terme observant des effets neurotoxiques	134
Tableau 44 : Résumé de l'étude de Maltoni <i>et al.</i> (1988)	139
Tableau 45 : Résumé des données modélisées	140
Tableau 46 : Réanalyse de l'excès de risque unitaire de l'US EPA (2011)	149
Tableau 47 : Analyse du risque de cancer du rein en fonction de l'exposition aux huiles de coupe et au TCE (Charbotel <i>et al.</i> , 2009)	150
Tableau 48 : VTR par voie respiratoire pour le trichloroéthylène	155

Liste des figures

Figure 1 : Métabolisme du TCE (INRS, 2011)	22
Figure 3 : Description du processus permettant de dériver la RfC	112
Figure 4 : Résumé de la démarche de construction d'excès de risque unitaire de l'US EPA	123
Figure 5 : Relation dose-réponse du TCE	127
Figure 6 : Modélisation de la caryocytomégalie	141
Figure 7 : Modélisation PBPK - DCVC	142
Figure 9 : Simulation d'une exposition continue sur une durée d'exposition subchronique à la BMCL _{ADJ HEC} de 43,7 ppm à l'aide du modèle PBPK de Covington <i>et al.</i> (2006)	144

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

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 des substances. 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 par défaut, il est généralement considéré que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2017a).

En pratique, la construction d'une VTR comprend les étapes suivantes :

- recenser et analyser les données de toxicité disponibles, sur la base d'études épidémiologiques et/ou expérimentales,
- identifier le ou les organes cibles et l'effet critique ;
- identifier l'hypothèse de construction, à seuil ou sans seuil de dose, en fonction du mode d'action de la substance,
- choisir d'une étude clé de bonne qualité scientifique permettant généralement d'établir une relation dose – réponse ;
- définir une dose critique chez l'Homme ou l'animal à partir de cette étude, éventuellement dans le cas d'une dose critique obtenue chez l'animal, ajuster cette dose à l'Homme ;
- pour une VTR à seuil, appliquer des facteurs d'incertitude à cette dose critique de manière à dériver une VTR applicable à l'ensemble de la population concernée ;
- pour une VTR sans seuil, réaliser une extrapolation linéaire à l'origine afin de déterminer un excès de risque unitaire.

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes.

1.2 Objet de la saisine

Dans le cadre des évaluations de risques réalisées dans le traitement des dossiers relatifs aux installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) ou à la gestion des sites et sols pollués, les Agences régionales de santé (ARS) ou les bureaux d'étude remontent à la DGS des questions relatives au choix des VTR de certaines substances. Ce choix s'effectue au regard de la note d'information N° DGS/EA1/DGPR/2014/307 du 31 octobre 2014 relative aux modalités de

sélection des substances chimiques et de choix des VTR pour mener les évaluations des risques sanitaires dans le cadre des études d'impact et de la gestion des sites et sols pollués.

Dans cette note, l'Anses a été désignée comme agence d'expertise pour le choix et la construction des VTR. Cependant pour certaines substances, telles que le trichloroéthylène (TCE), l'Anses recommande de n'en retenir aucune. L'Anses a ainsi été saisie pour proposer des VTR par inhalation aiguë, subchronique et chroniques (à seuil et sans seuil).

L'Anses a déjà réalisé une revue des VTR existantes par voie respiratoire (aiguë, subchronique et chroniques à seuil et sans seuil) ainsi que leur analyse critique dans le cadre de plusieurs travaux d'expertise collective en lien avec les valeurs de référence par inhalation pour le TCE (Tableau 1) :

- En 2009, l'Anses a proposé des valeurs guide de l'air intérieur (VGAI) (Afsset, 2009).
- L'Anses a également établi des valeurs limites d'exposition professionnelle (Anses, 2017b).
- Enfin, une analyse approfondie des VTR chroniques par voie respiratoire proposées par l'US EPA n'a permis de retenir aucune des valeurs proposées (Anses, 2013).

Tableau 1 : Valeurs de référence élaborées ou choisies par l'Anses

VGAI (référence)	VLEP (référence)	VTR par inhalation (référence)
VGAI court terme : / VGAI intermédiaire : 800 µg.m ⁻³ VGAI long terme - effets non cancérogène : / VGAI long terme - effets cancérogènes : 2 µg.m ⁻³ pour un niveau de risque de 10 ⁻⁶ (Afsset, 2009)	VLEP-8h : 38,3 mg.m ⁻³ VLCT : 191,4 mg.m ⁻³ (Anses, 2017b)	/ (Anses, 2013)

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » l'instruction de cette saisine jusqu'en août 2017 puis au CES « Valeurs sanitaires de référence ».

Les travaux d'expertise des rapporteurs ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par les rapporteurs 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.

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.

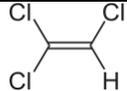
L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

2 Informations générales

2.1 Identification de la substance

Tableau 2 : Identification de la substance

Nom	Trichloroéthylène
Numéro CAS	79-01-6
Numéro EINECS	201-167-4
Synonymes	1,1,2-Trichloroéthène, 1,2,2-Trichloroéthylène, 1,1-Dichloro-2-chloroéthylène, 1-Chloro-2,2-dichloroéthylène, Acétylène trichloride
Formule brute	C ₂ HCl ₃
Formule développée	

2.2 Propriétés physico-chimiques

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques (INERIS, 2017 ; INRS, 2011)

Forme physique, odeur	Liquide incolore, odeur douce rappelant celle du chloroforme
Poids moléculaire	131,5 g.mol ⁻¹
Point d'ébullition	86,8 à 87,2 °C
Point de fusion	-87 à -84,7 °C
Pression de vapeur	7,8 kPa à 8,6 kPa à 20°C
Densité	1,4642 g.cm ⁻³ à 20 °C
Facteurs de conversion	1 ppm = 5,47 mg.m ⁻³ à 20 °C
Solubilité dans l'eau	1g.L ⁻¹
LogKow	2,29 à 2,98
Niveau de perception olfactive	115 mg.m ⁻³ (21 ppm) (OMS, 2000) 20 – 30 ppm soit 109-164 mg.m ⁻³ (CE, 2004) 100 ppm soit 546 mg.m ⁻³ (INERIS, 2017)

Le CES souligne le fait que la présence possible d'impuretés et celle avérée d'adjuvants dans les préparations commerciales rendent les observations et interprétations de certaines études délicates et peuvent expliquer certains des effets rapportés après exposition au TCE. Les préparations commerciales actuellement sur le marché dans les pays développés contiennent généralement plus de 99 % de TCE mais, dans le passé, elles ont pu renfermer diverses impuretés d'autres hydrocarbures aliphatiques chlorés en concentrations suffisantes pour produire des effets toxiques chez les utilisateurs (en particulier des impuretés de tétrachlorure de carbone, chloroforme, 1,2-dichloroéthane, 1,1,1-trichloroéthane, 1,1,2,2-tétrachloroéthane et

tétrachloroéthylène). En outre, pour assurer la stabilité du TCE, divers additifs sont également présents dans les préparations commerciales et peuvent être à l'origine de certains des effets associés à l'exposition, en particulier de réactions allergiques (amines aliphatiques, aniline, N-méthylmorpholine, époxybutane et d'autres époxydes, phénols, en particulier para-tert-butylphénol, nitropropane, *etc.*).

2.3 Classification

Le TCE possède une classification harmonisée selon le règlement européen n°1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, dit « CLP » :

- Irritation cutanée de catégorie 2 – H315 (Provoque une irritation cutanée),
- Irritation oculaire de catégorie 2 – H319 (Provoque une sévère irritation des yeux),
- STOT SE3 – H336 (Peut provoquer somnolence ou vertiges.)
- Mutagène de catégorie 2 – H341 (Susceptible d'induire des anomalies génétiques),
- Cancérogène de catégorie 1B – H350 (Peut provoquer le cancer),
- Danger pour le milieu aquatique – toxicité chronique de catégorie 3 – H412 (Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme).

Le TCE fait partie de la liste des substances extrêmement préoccupantes de l'ECHA (SVHC) depuis 2010.

Le TCE est également classé par le CIRC dans le groupe 1 (cancérogène chez l'Homme) (CIRC, 2014a).

2.4 Sources et utilisations

Le TCE dans l'environnement est uniquement d'origine anthropique. Sa principale utilisation est le dégraissage des pièces métalliques qui représente en Europe de l'ouest 95 % de la production et 24% aux Etats-Unis (INERIS, 2017). Il est également utilisé en tant que matière première pour la production d'un hydrocarbure fluoré, le 1,1,1,2-tétrafluoroéthane (HFC-134a) qui représentait, en 2004, 73% ddu tonnage utilisé aux USA (ATSDR, 2014). Etant un bon solvant pour l'extraction des graisses, huiles, matières grasses, cires et goudrons, il est également utilisé dans l'industrie textile pour le nettoyage du coton et de la laine et dans la fabrication des adhésifs, des lubrifiants, des peintures, des vernis et des pesticides. Le TCE entre également dans la fabrication de produits pharmaceutiques, de retardateurs de flamme et d'insecticides (ATSDR, 2014 ; INERIS, 2017).

Il est produit et/ou importé dans l'Union Européenne à hauteur de 10 000 à 100 000 tonnes par an (ECHA).

3 Synthèse des données toxicologiques

La synthèse des données toxicologiques a été rédigée sur la base des rapports de synthèse réalisés par des organismes reconnus au niveau international (NICNAS, 2000 ; DECOS, 2003 ; CE, 2004 ; NRC, 2006 ; US EPA, 2011 ; ECHA, 2014 ; CIRC, 2014a ; ATSDR, 2014 draft ; NTP, 2015) complétés par une recherche bibliographique réalisée sur la période 2014-2017. Le détail de cette recherche bibliographique complémentaire est présenté en [Annexe 2](#).

3.1 Toxicocinétique

3.1.1 Absorption

Chez l'animal comme chez l'Homme, le TCE est absorbé rapidement, quelle que soit la voie d'exposition.

Par inhalation, l'absorption du TCE à travers l'épithélium alvéolaire est rapide et importante (28-80% ; coefficient de partage sang/air compris entre 8 et 12 chez l'Homme) (Bartonicek, 1962 ; Nomiyama et Nomiyama, 1974a et b et 1977 ; Morgan *et al.*, 1970 ; Fernandez *et al.*, 1975 ; Monster *et al.*, 1976 et 1979 cités dans CE, 2004 ; Lash *et al.*, 2000). L'état d'équilibre sanguin est atteint après 2 heures d'une exposition continue. La dose absorbée est proportionnelle à la concentration inhalée, à la durée d'exposition et au taux de ventilation alvéolaire (US EPA, 2011). L'absorption pulmonaire est proportionnelle à l'augmentation de la ventilation pulmonaire liée à l'activité physique (Monster *et al.*, 1976 cités dans CE, 2004 ; Astrand et Ovrum, 1976).

Par voie orale, l'absorption du TCE est également rapide et importante par diffusion passive.

L'absorption cutanée semble également importante, mais sa mesure est rendue difficile par la nature chimique du TCE (solvant lipophile) qui lèse le *stratum corneum* (couche cornée), ce qui entraîne une absorption plus importante (INRS, 2011). L'exposition cutanée (30 min) a été testée chez quatre volontaires sains : suite à l'immersion d'une main dans du TCE, une absorption percutanée importante a été mise en évidence par des concentrations de TCE mesurées dans le sang (2 mg.L⁻¹ immédiatement après exposition, 0,34 mg.L⁻¹ après 30 min et 0,22 mg.L⁻¹ après 1h) (Sato et Nakajima, 1978). Poet *et al.* (2000) ont calculé à partir de mesures effectuées chez des volontaires exposés au TCE liquide par voie cutanée un coefficient de perméation cutanée de 0,015 cm.h⁻¹.

Kezic *et al.* (2000) ont exposé les mains et avant-bras (1000 cm²) de 5 volontaires sains à du TCE sous forme vapeur pendant 30 min et ont mis en évidence un coefficient de perméabilité de 0,049 cm.h⁻¹.

3.1.2 Distribution

Chez l'Homme et l'animal et quelle que soit la voie d'absorption, le TCE est largement distribué dans tout l'organisme *via* la circulation sanguine. Compte tenu de son caractère lipophile, il est

majoritairement retrouvé dans le tissu adipeux¹, mais également dans le foie, les reins, le système nerveux et le système cardiovasculaire. Il est capable de passer la barrière placentaire, la barrière hémato-encéphalique et de se retrouver dans le lait maternel.

3.1.3 Métabolisme

Chez l'Homme, 40 à 75% du TCE inhalé sont métabolisés. Les voies métaboliques sont qualitativement similaires entre les espèces.

Le TCE est rapidement métabolisé par deux voies, principalement au niveau du foie (INRS, 2001) (Figure 1) :

- *via un métabolisme oxydatif* (implication du cytochrome P450 ou CYP) : le TCE est rapidement métabolisé par le CYP450 (en particulier le CYP 2E1) en un époxyde instable (oxyde de trichloroéthylène), lequel se transforme majoritairement en trichloroacétaldéhyde ou chloral, hydrolysé en hydrate de chloral. L'hydrate de chloral sert alors de substrat à l'alcool déshydrogénase et l'hydrate de chloral déshydrogénase, conduisant respectivement à la formation de trichloroéthanol (TCOH) (libre et conjugué glucuronidé) et d'acide trichloroacétique (TCA). Ces métabolites sont majoritaires et sont excrétés principalement dans l'urine. De manière minoritaire, l'époxyde instable peut également conduire à la formation d'acide dichloroacétique (DCA), d'acide monochloroacétique, d'acide formique, de monoxyde de carbone, d'acide oxalique et de N-(hydroxyacétyl)-aminoéthanol.
- dans une moindre mesure par *conjugaison au glutathion* : le TCE est également métabolisé *via* la glutathion-S-transférase en S-1,2-dichlorovinylglutathion (DCVG) puis en S-1,2-dichlorovinylcystéine (DCVC). Ces métabolites réactifs sont formés au niveau du foie et des reins. Le DCVC peut être transformé selon différentes voies soit en N-acétyl-dichlorovinylcystéine (NACDCVC) par une N-acétyltransférase, soit en chlorure de thioacyle ou en chlorothiocétène *via* une β -lyase. Le chlorothiocétène peut ensuite être hydrolysé en acide monochloroacétique.

¹ Les graisses peuvent servir de réservoir de TCE. L'accumulation peut transitoirement augmenter les expositions internes sans bioaccumulation à moyen ou à long terme.

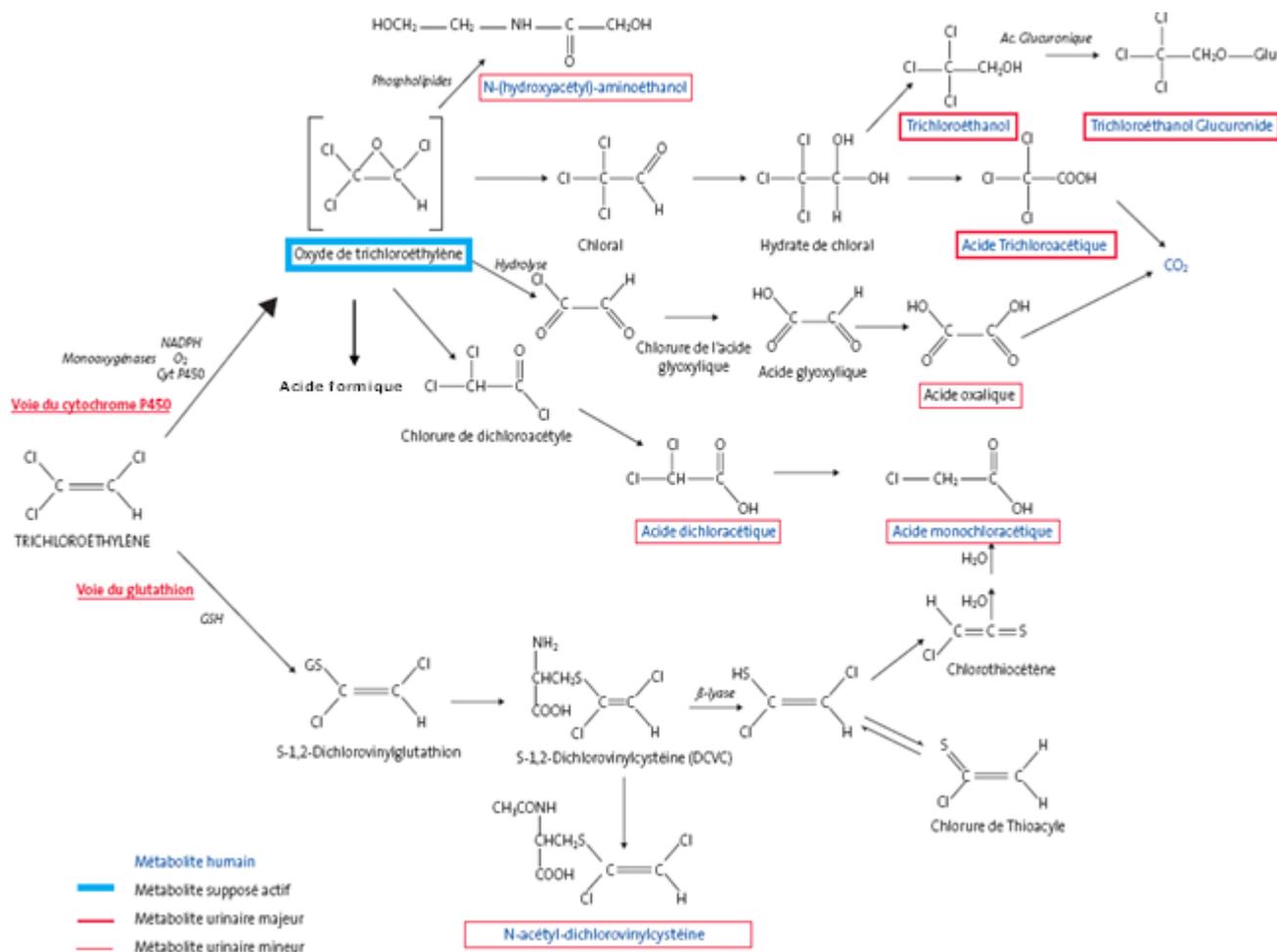


Figure 1 : Métabolisme du TCE (INRS, 2011)

La voie principale de métabolisme du TCE (*via* CYP 450) semble qualitativement identique, quelle que soit la voie d'exposition, chez les différentes espèces animales et chez l'Homme. Cependant, quelques différences quantitatives existent entre les espèces et les souches. Chez le rat, une saturation du métabolisme entraîne des concentrations sanguines de TCOH et de TCA 4 à 7 fois moins importantes que chez la souris.

Chez l'Homme, aucune saturation n'a pu être mise en évidence aux concentrations d'exposition expérimentales (jusqu'à 300 ppm). Par modélisation mathématique, le métabolisme du TCE pourrait être saturé pour des expositions (inhalation) supérieures à 2 000 ppm (ATSDR, 2014).

L'éthanol peut moduler le métabolisme du TCE par la voie oxydative dépendante du CYP450 (CYP2E1) selon plusieurs facteurs : le délai entre l'exposition à l'éthanol et au TCE, les doses d'exposition ainsi que le caractère habituel de la consommation d'alcool (la prise habituelle entraînant une induction du CYP2E1). A forte dose, l'éthanol inhibe compétitivement le métabolisme du TCE entraînant une accumulation du TCE inchangé, quelle que soit l'intensité de l'exposition au TCE. Aux fortes concentrations, le TCE sature ses propres voies de métabolisation entraînant une augmentation des concentrations de TCE inchangé, relativement plus forte que celle des métabolites ; la co-exposition à l'alcool exagérerait ce phénomène. Par ailleurs, l'exposition répétée à l'éthanol induit le CYP2E1 ce qui entraîne une augmentation de la métabolisation oxydative du TCE.

Des inhibitions compétitives du métabolisme du TCE avec d'autres substances ont été observées notamment pour le 1,1,1-trichloroéthane, le tétrachloroéthylène, l'isopropanol, le pyrazole et le tétra éthylthiuram disulfure (CE, 2004).

3.1.4 Élimination

Les voies d'élimination du TCE sont qualitativement identiques chez l'animal et l'Homme sans influence de la voie d'exposition. Le TCE inchangé (10-28% de la dose) et les métabolites volatils (CO₂, CO, TCOH) sont éliminés dans l'air expiré (CE, 2004). Le TCE inchangé est éliminé dans l'air expiré pendant 18h après une exposition unique. Les métabolites principaux, le TCOH et le TCA, sont éliminés dans les urines (48-85%) et les fèces. Chez l'Homme, la demi-vie d'élimination urinaire du TCOH et de son dérivé conjugué est d'environ 10h et celle du TCA d'environ 50h. L'élimination du TCOH par les urines est totale 5 jours après l'arrêt de l'exposition, celle du TCA au bout de 13 jours (INRS, 2011 ; INERIS, 2017).

Des différences d'élimination urinaires en fonction du sexe ont été rapportées : les niveaux urinaires de TCOH et de TCA semblent être plus élevés chez la femme que chez l'homme (Nomiyama et Nomiyama, 1971).

Les métabolites mineurs (acides dichloroacétique et monochloroacétique, N-(hydroxyacétyl)aminoéthanol, N-acétyl-dichlorovinylcystéine) sont éliminés dans l'urine, le plus important étant l'acide monochloroacétique (4% de la dose).

3.1.5 Modèles pharmacocinétiques et pharmacodynamiques

Plusieurs modèles « physiologiques toxicocinétiques » PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic) ont été proposés pour le TCE. Les trois modèles les plus utilisés sont (NRC, 2006) :

- les modèles de l'équipe de Fisher, proposés à partir de 2 000, qui permettent une modélisation chez l'Homme ou la souris des risques de cancer du foie après exposition par voie orale et respiratoire au TCE et formation de métabolites au niveau hépatique. Aucun de ces modèles ne considère le métabolisme rénal, et donc en particulier la voie du glutathion qui pourrait jouer un rôle important dans les manifestations toxiques chez l'Homme ;
- les modèles de l'équipe de Clewell, plus complexe que les modèles de Fisher car ils comportent des sous-modèles pour les principaux métabolites et pour les trois organes cibles mis en évidence lors des études de toxicité chez l'animal (poumon pour le chloral, rein pour la dichlorovinylcystéine et foie pour le chloral, les acides di- et trichloroacétiques, le trichloroéthanol et son dérivé conjugué). Ce modèle prend en compte les expositions par voie respiratoire et orale, ainsi que les métabolismes hépatique et rénal, aussi bien chez l'Homme que chez l'animal ;
- sur la base des éléments développés dans les modèles de Fischer et de Clewell, et en considérant les ré-estimations des paramètres de ces modèles réalisées par Bois *et al.* (2000a et b) à l'aide de techniques bayésiennes, l'US EPA et l'US Air Force ont proposé en 2004 un modèle harmonisé combinant les caractéristiques des modèles de Fischer et de Clewell et utilisé chez la souris, le rat et l'Homme (TERA, 2004 ; Chiu *et al.*, 2006).

Cependant, malgré leur développement continu, aucun de ces modèles n'intègre actuellement toutes les voies d'exposition (par exemple : la voie cutanée). De même, la métrique de dose à

utiliser dans ces modèles n'est pas clairement argumentée : aire sous la courbe, dose cumulée, concentration maximale...

Le développement de modèles plus complexes est lié à la progression des connaissances scientifiques concernant la compréhension du ou des modes d'action toxique du TCE.

Aucun de ces modèles PBPK ne présente de limite pour l'élaboration de VTR.

3.2 Toxicité aiguë et subaiguë par inhalation

3.2.1 Effets aigus

3.2.1.1 Chez l'Homme

Des décès ont été rapportés chez l'Homme après inhalation de fortes concentrations de vapeurs de TCE (sans que celles-ci soient précisées) en milieu professionnel (Bell, 1951 ; Coopman *et al.*, 2003 ; Ford *et al.*, 1995 ; Kleinfeld et Tabershaw, 1954 ; McCarthy et Jones, 1983 ; Pantucharoensi *et al.*, 2004 ; Smith, 1966 ; Thorburn *et al.*, 2004), après utilisation comme anesthésique (DeFalque, 1961) et inhalation présumée intentionnelle (Clearfield, 1970 ; Jones et Singer, 2008 ; Takaki *et al.*, 2008 ; Troutman, 1988) (ATSDR, 2014). Les décès seraient dûs à une fibrillation ventriculaire induite par une sensibilisation du cœur par le TCE à des catécholamines endogènes (NICNAS, 2000).

Chez l'Homme exposé par inhalation, la principale cible est le **système nerveux central (SNC)**. En effet, lors d'expositions massives (plusieurs centaines de ppm), des états d'excitation suivis d'une dépression du SNC (syndrome ébrieux, puis coma) ont été mis en évidence. Des lésions neurologiques, notamment au niveau des nerfs optique et trijumeau, ont également été rapportées à la suite d'expositions accidentelles et sont imputables au dichloroacétylène, produit de dégradation du TCE en milieu basique.

Plusieurs études menées chez des volontaires sains dans des conditions contrôlées mais sur un effectif réduit ont observé des effets neurologiques mineurs (étourdissements, fatigue, somnolence) à partir de 200 ppm (Stewart *et al.*, 1970 et 1974 ; Vernon et Ferguson, 1969 ; Ferguson et Vernon, 1970 cité dans US EPA, 2008). Aucun signe significatif de dépression du SNC n'a été observé à cette concentration et à des concentrations inférieures (Ferguson et Vernon, 1970 ; Triebig *et al.*, 1976 et 1977 ; Konietzko *et al.*, 1975a et b ; Windemuller et Ettama, 1978 ; Winneke *et al.*, 1976 et 1982 ; Ettema et Zielhuis, 1975 ; Ettema *et al.*, 1975 cités dans US EPA, 2008 et 2011 ; Stewart *et al.*, 1970 et 1974 ; Vernon et Ferguson, 1969). L'exposition à 1 000 ppm pendant 2 h a entraîné des changements significatifs de la performance à des tests neurocomportementaux visio-moteurs, les niveaux d'exposition plus faibles restant sans effet (Vernon et Ferguson, 1969 ; Ferguson et Vernon, 1970 cité dans US EPA, 2008). Ces changements ont été potentialisés par l'exposition à l'alcool (Ferguson et Vernon, 1970 cité dans US EPA, 2008). Alors que certains effets subjectifs, comme une somnolence, des étourdissements et une léthargie, ont été signalés dès 27 ppm par plusieurs volontaires sains dans l'étude menée par Nomiyama et Nomiyama (1977), aucune modification significative des deux tests neurocomportementaux pratiqués n'a été mise en évidence (flicker fusion frequency, two-point discrimination). L'étude menée par Salvini *et al.* (1971), a observé une altération des performances psychométriques dans 4 tests différents (perception visuelle, dextérité manuelle, test de mémorisation de Wechsler, temps de réaction visuel) suite à une exposition de 2 fois 4 heures

chacune séparée par un intervalle de 1h30 à la concentration moyenne de 110 ppm pendant chaque période de 4 heures, ce qui contraste avec les effets observés dans les autres études.

L'ensemble des études chez des volontaires est résumé dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Synthèse des études humaines contrôlées (NICNAS, 2000 ; US EPA, 2011)

Références	Sujets	Expositions	Effet neurocomportemental	Autres effets sanitaires
Kylin <i>et al.</i> (1967)	12 volontaires (chacun étant son propre témoin, 7 volontaires ont été pré- testés 5 jours avant l'exposition)	1 000 ppm 2h (chambre d'exposition)	Réduction globale de la limite pour atteindre le nystagmus optokinétique, persistant 2h après l'arrêt de l'exposition	
Vernon et Ferguson (1969)	8 volontaires ♂ (chacun étant son propre témoin)	0, 100, 300 et 1 000 ppm 2 h (breathing tube)	1 000 ppm : ↓ de la performance aux tests de perception visuelle (Howard Dolman et Steadiness tests) et à un test de dextérité manuelle (Pegboard, (↑des erreurs) Pas d'effet au flicker fusion frequency test et au form perception illusion test	1 000 ppm : symptômes subjectifs (étourdissements, léthargie)
Ferguson et Vernon (1970)	8 volontaires ♂	0, 100, 300 et 1000 ppm +/- consommation d'alcool (35 mg/70kg) 2 h	1000 ppm : plus faible performance neurocomportementale en présence d'alcool (comparativement à Vernon et Ferguson, 1969 ; mêmes tests)	1 000 ppm : ↑ symptômes subjectifs
Stewart <i>et al.</i> (1970)	5 ou 6 volontaires (♂) (chacun étant son propre témoin)	200 ppm (conc mesurée moy. 198-199 ppm) 7h/j ; 5 jours	Aucun effet dans les tests de dextérité et de coordination	Symptômes subjectifs : gorge sèche (n = 40% dans les 2h), irritation oculaire légère (n = 20%) Jour 4: fatigue (n = tous), somnolence (n = 3)
Stewart <i>et al.</i> (1974a)	9 volontaires (3 ♀, 6♂) (chacun étant son propre témoin)	0, 50 ou 110 ppm (conc. Mesurées 49-56 ppm, 110-114 ppm) 2 périodes de 4h/jours, 3 jours (4j d'intervalle entre chaque périodes)	Aucun effet neurocomportemental (complex reaction time, tachistoscopic perception test, digit span test, finger dexterity test, Flanagan coordination test, digit inspection test) Très faible effet au Flanagan coordination test à 110 ppm (n = 2, seulement matudinal test)	Aucun effet sur l'EEG Détection de l'odeur aux 2 concentrations Symptômes subjectifs légers à 0, 50 et 110 ppm (maux de tête, étourdissements, nausée, irritation oculaire et de la gorge)
Salvini <i>et al.</i> (1971)	6 volontaires ♂ étudiants + 6 travailleurs exposés régulièrement au TCE	110 ppm (concentrations mesurées entre 90-130 ppm) 2 périodes de 4h séparées par 1h30	<u>Etudiants</u> : ↓ performance dans tous les tests neurocomportementaux (perception, mémoire, temps de réaction complexe, dextérité manuelle) <u>Travailleurs</u> : résultats similaires aux étudiants	<u>Etudiants</u> : Odeurs désagréables, étourdissements légers, sensation d'irritation oculaire passagère Pas de troubles cliniques des fonctions motrices, de la coordination, de l'équilibre

				ou du comportement
Ertle <i>et al.</i> (1972)	5 ou 6 volontaires	50 ou 100 ppm 6h		Fatigue et difficulté à se concentrer
Ettema et Zielhuis (1975) ; Ettema <i>et al.</i> (1975)	47 volontaires (n = 15-16 ♂/conc.)	0, 150 ou 300 ppm (conc. nominales) 2,5h	Aucun effet sur la performance neurocomportementale (<i>binary choice tasks, Bourdon-Wiersma test, identification test, memory test</i>)	Aucun symptôme clinique Suppression de l'arythmie sinusale indiquant un effort plus important pour réaliser la même tâche (effet + important à 150 ppm)
Nomiyama et Nomiyama (1977)	12 volontaires ♂ (n=3/conc.)	0, 27, 81 ou 201 ppm 1-4h	Pas d'effet sur les performances neurocomportementales (<i>flicker fusion frequency, two-point discrimination test</i>)	≥27 ppm : - odeur (ne sentent plus l'odeur au bout de 3h même à 201 ppm) - sensation d'irritation oculaire et de la gorge et somnolence ≥81 ppm après 2h : céphalées à 201 ppm : anorexie, étourdissements et sensation d'irritation cutanée Aucun effet sur le rythme respiratoire
Winneke <i>et al.</i> (1976)	12 volontaires	50 ppm (conc. nominale : 50±11 ppm) 3,5 h	Pas d'effet sur les performances neurocomportementales (<i>reaction time test, tapping test, pursuit rotor test</i>)	
Winneke <i>et al.</i> (1982)	24 volontaires ♂ répartis en 4 groupes de 6	<u>Expérience 1</u> : 0, 50 ppm <u>Expérience 2</u> : 50 ppm TCE vs alcool (0,6 mg/kg pc) 3,5h	Aucun effet dans les tests neurocomportementaux (<i>reaction time test, tapping test, pursuit rotor test</i>) ↓ de la performance neurocomportementale uniquement dans le groupe exposé à l'alcool Réduction de l'amplitude de l'onde P2 des potentiels évoqués auditifs à la fin de l'exposition au TCE	
Windemuller et Ettema (1978)	24 volontaires ♂ (n = 6/conc.)	0 ou 200 pm (conc. nominales) +/- consommation alcool (0,35 g/kg) 50 min avant la fin de l'exposition 2,5h	Aucun effet sur les performances neurocomportementales (<i>binary choice test using visual stimuli and pursuit rotor</i>)	Aucun signe clinique
	15 volontaires ♂ (chacun étant son propre témoin)	200 ppm + alcool 10 min avant la fin de l'exposition	Aucun effet sur les performances neurocomportementales (<i>binary choice test using visual stimuli and pursuit rotor</i>) après exposition au TCE Performance légèrement réduite après alcool+TCE et alcool seul	Aucun signe clinique.

Konietzko <i>et al.</i> (1975a et b)	20 volontaires ♂ (chacun étant son propre témoin)	95,8±8,2 ppm (conc. mesurées) 4h	Aucun effet dans les tests de fonction neurocomportementale (<i>tests for manual dexterity, hand reaction time, hand steadiness, tracing of a line, amiming and taiping</i>)	Aucun effet sur l'ECG sauf extrasystoles ventriculaires chez 1 volontaire après 15 min d'exposition
Triebig <i>et al.</i> (1976 et 1977)	7 volontaires (3♂, 4♀)/conc.	0 ou 100 ppm (mesure en continue 99,8-135 ppm) 6h/j, 5 j consécutifs	Aucun effet sur les performances neurocomportementales (batterie de tests standardisés de performance, échelles d'auto-évaluation, tests d'intelligence, de mémoire et d'attention)	
Gamberale <i>et al.</i> (1976)	15 volontaires ♂ (chacun testant les 3 concentrations)	0, 100 ou 200 ppm (conc. mesurées 94-103 ppm ; 192-197 ppm) 70 min/j ; 3 j	Performance réduite au « <i>addition reaction time</i> » (conc. non spécifiée) mais pas dans 2 autres tests pour le temps de réaction Pas d'effet dans un test de mémoire à court terme	Pas de symptômes cliniques
Konietzko et Reill, 1980	20 volontaires ♂	95 ppm 4h		Pas d'effet sur les niveaux sériques d'enzymes hépatiques 0,4 et 30h après l'exposition

Plusieurs cas d'intoxication par le TCE ont été décrits dans la littérature du fait de son utilisation en tant qu'anesthésique² et en tant que solvant dans l'industrie et confirment le SNC comme organe cible, bien que les informations sur l'exposition soient limitées (concentration et durée ; pureté du TCE impliqué). Longley et Jones (1963 cité dans US EPA, 2008) rapportent une narcose aiguë chez 2 travailleurs exposés accidentellement à des concentrations d'environ 3 000 ppm (exposition au TCE plusieurs heures avant l'accident). Kostrzewski *et al.* (1993 cité dans US EPA, 2008) ont observé une perte de conscience chez 3 travailleurs exposés accidentellement au TCE (concentration non connue, estimée à 2 800 ppm grâce aux données de cinétique). Au réveil, ceux-ci présentaient des céphalées, des vertiges et un larmolement. Des lésions organiques au niveau du système nerveux ont également été décrites chez des sujets exposés accidentellement. À la suite d'une exposition à plusieurs milliers de ppm de TCE (durée inconnue), Sagawa *et al.* (1973 cité dans US EPA, 2008) ont rapporté une perte complète de sensation au niveau du torse et des jambes chez une jeune femme, après une perte de conscience de deux heures. Ces effets faisaient suite à une exposition à plusieurs milliers de ppm, pendant une durée inconnue. Aucune information sur d'éventuelles impuretés du TCE n'était disponible. La perte de sensation fut persistente, avec seulement une légère récupération durant les 9 mois d'observation. Une perte de la sensorialité dépendante du nerf trijumeau a été décrite chez un sujet exposé quelques minutes

² Des concentrations entre 5 000 et 20 000 ppm sont nécessaires pour entraîner une faible anesthésie (Parfitt *et al.*, 1999 cité dans US EPA, 2008). Selon Langton-Hewer (1975), il est nécessaire d'avoir une concentration sanguine de 100 mg/L qui peut être obtenue par inhalation de 7 000 ppm. Dans la majorité des cas, le TCE utilisé comme anesthésique est combiné avec le N₂O.

à de fortes concentrations de vapeurs de TCE (pureté non précisée) qui a présenté par ailleurs les symptômes suivants : nausée, vomissements et étourdissement, une hypoesthésie importante du visage avec un engourdissement de la bouche et du pharynx perdurant pendant 3 mois et une vision floue (Feldman, 1970 cité dans US EPA, 2008). Dix-huit ans après l'exposition, Feldman *et al.* (1985) ont examiné de nouveau ce patient et ont trouvé des indications de dysfonctionnement oculomoteur et réflexe ciliaire résiduel à long terme ainsi qu'une altération des performances neuropsychologiques (Feldman *et al.*, 1985).

Dans une étude centrée sur les travailleurs utilisant le TCE comme dégraissant, les niveaux d'exposition sur une journée de travail étaient compris entre 22 et 66 ppm (moyenne : 38 ppm) avec des pics entre 77 et 370 ppm. Neuf des 12 travailleurs exposés avec une durée d'emploi entre 4,4 et 9,4 années ont été soumis à un examen médical (versus 9 témoins). Sept personnes exposées et 1 témoin ont rapporté des symptômes (fatigue, perte de sommeil, irritation oculaire, ...). Trois mois après, avec des expositions réduites (moyenne à 16 ppm) et des pics d'exposition à 74 ppm, le nombre de symptômes rapportés a légèrement diminué (Landrigan et Kominsky, 1987 cité dans US EPA, 2011).

Des concentrations massives en TCE lors d'intoxications (Dhuner *et al.*, 1957 ; Gutch *et al.*, 1965) et lors de son utilisation comme anesthésique (Barnes et Ives, 1944 ; Orth et Gillespie, 1945 ; Boulton et Sweet, 1960 ; Thierstein *et al.*, 1960 ; Pembleton, 1974) ont entraîné des **arythmies cardiaques** (US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014). Des études de cas ont également mis en évidence des effets cardiaques du même type (ECG anormal, extrasystolie ventriculaire) (CE, 2004 ; US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014).

Un rapport de cas a mis en évidence des **effets hépatiques**. Une atteinte hépatique caractérisée par des concentrations élevées d'alanine aminotransférase (ALAT) et d'aspartate aminotransférase (ASAT) dans le sérum (jusqu'à 3 jours après exposition) a été observée chez un travailleur exposé accidentellement à des concentrations estimées à 2 800 ppm (15 000 mg.m⁻³) à partir des concentrations en TCE sanguin et TCA urinaire (Kostrzewski *et al.*, 1993 cité dans CE, 2004 et US EPA, 2008). L'absence d'information sur la présence éventuelle d'impuretés d'autres hydrocarbures chlorés dans le TCE technique impliqué ne permet pas d'incriminer de manière certaine le TCE.

Plusieurs rapports de cas ont également observé des **effets rénaux**, en particulier une insuffisance rénale aiguë (Gutch *et al.*, 1954 ; David *et al.*, 1985 cités dans US EPA, 2011) L'absence d'information sur la présence éventuelle d'impuretés d'autres hydrocarbures chlorés dans le TCE technique impliqué ne permet pas d'incriminer de manière certaine le TCE.

3.2.1.2 Chez l'animal

- Décès

Les plus faibles CL₅₀ sont de 4 800 ppm pour des rats exposés 4h et 5 857 ppm chez des souris exposées 6 h (Tableau 5).

Tableau 5 : Valeurs de CL₅₀ (NICNAS, 2000 ; US EPA, 2011)

Espèces	CL ₅₀	Durée exposition	Référence
Rat ♂	26 300 ppm	1 h	Vernot <i>et al.</i> (1977)
Rat ♀	25 700 ppm		
Rat Wistar	4 800 ppm	4 h	Adams <i>et al.</i> (1951)
Rat NMRI :O(SD) ♂	12 000 ppm	4h	Siegel <i>et al.</i> (1971)
Rat Sprague Dawley	5 918 ppm	6 h	Bonnet <i>et al.</i> (1980)
Souris	8 450 ppm	4 h	Friberg <i>et al.</i> (1953)
Souris OF ₁	5 857 ppm	6 h	Gradiski <i>et al.</i> (1978)

- Neurotoxicité

Les effets sur le SNC semblent être les effets les plus sensibles suite à une exposition au TCE par inhalation.

Les performances de nage ainsi que l'activité motrice ont été diminuées chez des rats exposés 6h à partir de 800 ppm. De la même façon, le nombre d'alternations mesuré dans un labyrinthe en T a été diminué à partir de 600 ppm. Globalement, la NOAEC a pu être estimée à 400 ppm d'après ces deux études (Grandjean *et al.*, 1963 ; Grandjean et Bättig 1964 cités dans CE, 2004).

Dans une étude plus récente, une diminution dose dépendante de la performance dans un test d'évitement des chocs électriques a été notée chez des rats exposés 4h dès la première dose, 250 ppm (Kishi *et al.*, 1993 cité dans CE, 2004). Dans une autre étude, 18 rats femelles et 10 mâles ont été exposés une heure à 2700, 4200, 6100 et 7200 ppm. Il a été observé une diminution de la capacité à compenser les mouvements oculaires après stimulation optocinétique, un nystagmus prolongé et une diminution de la capacité à supprimer la réponse vestibulaire, après stimulation optocinétique et vestibulaire simultanément à toutes les concentrations, et ce de manière concentration dépendante. Aucune dose sans effet n'a pu être mise en évidence (Niklasson *et al.*, 1993 cité dans US EPA, 2008).

Une étude s'est intéressée à la relation durée d'exposition-concentration sur la réponse comportementale des animaux à la perception d'un stimulus lumineux chez des rats exposés à des concentrations allant de 400 à 2400 ppm. L'indice de sensibilité était diminué dès 1200 ppm pour des expositions de 0,67h et 1h, et le temps de réponse était augmenté à partir de 2400 ppm, pour la même durée d'exposition. La NOAEC pour cette étude est donc 800 ppm (Bushnell *et al.*, 1997 cité dans ATSDR, 2014).

Crofton et Zhao (1997) ont étudié l'ototoxicité du TCE. Après une exposition unique à différentes concentrations, ils ont déterminé un seuil auditif pour un son de 16kHz, et réalisé un calcul de concentration pour entraîner une augmentation de 15dB du seuil auditif (BMC). Ils aboutissent à une BMC de 6 218 ppm et une BMCL_{95%} de 5 223 ppm.

Chez des souris exposées 2h, l'activité locomotrice spontanée a été diminuée à toutes les concentrations testées (600, 4 010 et 1 400 ppm) (Wolff *et al.*, 1976 cité dans CE, 2004).

Oshiro *et al.* ont examiné les effets neurologiques résiduels d'une exposition au TCE à 0, 1 600 ou 2 400 ppm *via* l'inhalation 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 4 semaines chez le rat mâle adulte. Les auteurs ont noté une diminution de l'apprentissage de l'attention soutenue évaluée 3 semaines après la fin de l'exposition. Aucune relation dose-effet n'a été identifiée (Oshiro *et al.*, 2004 cité dans NRC, 2006).

Bushnell et Oshiro (Bushnell et Oshiro 2000 cité dans NRC, 2006) ont rapporté que des expositions au TCE à 2 000 ou 2 400 ppm par inhalation pendant 9 jours diminuent les capacités d'attention soutenue, la probabilité de réponse correcte à un signal et augmentent notamment le temps de réaction.

Tableau 6 : Synthèse des études de toxicité aiguë et subaiguë chez l'animal par voie respiratoire (CE, 2004 ; US EPA, 2011)

Référence	Espèce	Exposition	Effets recherchés	Effets observés	Concentration critique (ppm)
Grandjean (1963)	Rat (n = 6)	0, 400, 800 et 1 600 ppm (conc. nominales) 6h	Performance de natation Activité motrice	800 ppm : ↓ performance de natation 1 600 ppm : ↓ activité motrice (↓ à toutes les concentrations mais significative qu'à 1 600 ppm) (toujours présent 1h après arrêt exposition)	NOAEC = 400 LOAEC = 800
Grandjean et Bättig (1964)	Rat (n= 12)	0, 200, 400, 600, 800 ou 1 600 ppm (conc. nominales) 4-8h	Test d'alternance spontanée (T-maze)	↓ alternance à 400, 600 et 800 ppm (pas à 1 600 ppm mais vitesse réduite) après une exposition de 8h Vitesse de locomotion : faible ↓ à 200 ppm (4h), ↑ 400 et 600 ppm (4 et 8h), pas d'effet à 800 ppm (8h), ↓ à 1 600 ppm	NOAEC = 400 LOAEC = 800
Kishi <i>et al.</i> (1993)	Rat Wistar (n = 8)	0, 250, 500, 1 000, 2 000 et 4 000 ppm (10-20 j entre chaque exposition) (exposition corps entier) 4h (pendant la nuit)	Rats entraînés avant exposition pour appuyer sur un levier en réponse à un stimulus lumineux pour éviter un choc électrique (skinner box)	↓ performance d'évitement du choc électrique avec une relation dose-réponse : - performance affectée à 250 ppm en 140 min, à 500 ppm en 80 min et à 1 000 et 2 000 ppm en 20 min ; - à 4 000 ppm : ataxie et pas de réponse au stimulus. Association entre les concentrations sanguines en fin d'exposition à 250 et 500 ppm (10 à 40 µg/mL) et faible ↓ performance et quelques symptômes sur SNC Concentrations sanguines en fin d'exposition à 2000 et 4000 ppm associées à une dépression marquée du SCN et une anesthésie	LOAEC = 250
Niklasson <i>et al.</i> (1993)	Rats pigmentés (n = 18♀, 10♂)	0, 2 700, 4 200, 6 100 et 7 200 ppm 1h	Mesure de la vitesse oculaire moyenne des phases lentes pour le nystagmus pendant une stimulation vestibulaire ou optocinétique	↓ capacité à compenser les mouvements oculaires après stimulation optocinétique ; Nystagmus prolongé ; ↓ capacité à supprimer la réponse vestibulaire après stimulation optocinétique et vestibulaire simultanément à toutes les concentrations	LOAEC = 2 700
Bushnell <i>et al.</i> (1997)	Rats Long-Evans ♂ (n = 20)	0, 400, 600, 800, 1 200, 1 600, 2 000, 2 400 ppm (conc. nominales) 3 séries de 2 semaines	Entraînement des rats : Signal = presser un levier lumineux pour obtenir de la nourriture en ignorant un 2d levier non lumineux offert simultanément Blanc = presser un levier non lumineux et en ignorant le levier précédemment allumé et offert simultanément Mesure de la performance à des tâches :	≥ 1200 ppm pendant 0,67 à 1h : ↓ indice de sensibilité 2400 ppm pendant 0,67 à 1h : ↑ temps de réponse	NOAEC = 800

			Indice de sensibilité = capacité de l'animal à discriminer un signal par rapport au blanc Temps de réponse : temps entre l'insertion des leviers dans la chambre d'exposition et la pression du levier		
Crofton et Zhao (1997)	Rats Long-Evans ♂ (n = 8-12)	4 000, 6 000, 8 000 ppm 1 jour ; 5h/j	Ototoxicité : détermination d'un seuil auditif pour un son de 16 kHz. Calcul de concentration pour entraîner une augmentation de 15dB du seuil auditif (BMC) et de la BMCL _{95%}	BMC = 6218 ppm BMCL _{95%} = 5 223 ppm	
		1 000, 1 600, 2 000, 2 400, 3 200 ppm 1 semaine ; 5h/j, 5j/semaine		BMC = 2 992ppm BMCL _{95%} = 2 108ppm	
		800, 1 600, 2 300 et 3 200 ppm 4 semaines ; 5h/j, 5j/semaine		BMC = 2 592 ppm BMCL _{95%} = 1 418 ppm	
Wolff (1976)	Souris AB (sexe non reporté)	600, 4 010 et 1 400 ppm 2h	Activité locomotrice spontanée (chambre d'exposition circulaire)	↓ activité locomotrice spontanée à toutes les concentrations	LOAEC = 600
	Souris ICR ♂	120, 692 et 1 108 ppm 2h		≥ 692 ppm : ↓ activité locomotrice spontanée	NOAEC = 120 LOAEC = 692
Kjellstrand et al. (1985)	Souris NMRI ♂ (n = 54)	380, 480, 570, 700, 900, 1 100, 1 200, 1 800, 2 300 et 3 600 ppm 1h (pendant la nuit)	Activité motrice générale (Doppler radar unit)	Aux fortes concentrations : ↑ activité motrice avec une disparition graduelle de l'effet en fonction de la diminution de la concentration et une absence d'effet à 900 ppm Aux faibles concentrations : ↓ faible activité motrice avec une disparition graduelle de l'effet en dessous de 700 ppm	
Bushnell et Oshiro (2000)	Rats Long-Evans ♂ (n = 32)	0, 2 000 et 2 400 ppm 70 min/j, 9 j		↓ capacités d'attention soutenue, probabilité de réponse correcte à un signal ↑ temps de réaction et ↓ du taux de réponse	LOAEC = 2 000
Oshiro et al. (2004)	Rats Long-Evans ♂ (n = 24)	0, 1 600 ou 2 400 ppm 6 h/j, 5 j/semaine, 4 semaines		Pas de changement du temps de réaction en réponse à un signal ou sous amphétamine, aucun changement chez les témoins	NOAEC = 2 400

- Toxicité pulmonaire

Une toxicité pulmonaire (augmentation du nombre de cellules de Clara vacuolisées) a été observée, chez la souris exclusivement, suite à une exposition unique par inhalation au TCE d'au moins 20 ppm pendant 6 heures et au-delà de 500 ppm pendant 30 minutes (Odum *et al.*, 1992 ; Villaschi *et al.*, 1991 cités dans NICNAS, 2000 ; CE, 2004). L'atteinte était maximale 24 à 48h après l'exposition et était réversible en 7 jours. Ces lésions seraient dues à l'accumulation d'hydrate de chloral dans les cellules de Clara qui sont riches en CYP450, mais dépourvues d'aldéhyde-déshydrogénase (CE, 2004). Cependant, les effets sur les cellules de Clara sont spécifiques de la souris, espèces richement pourvue en cellules de Clara, par comparaison avec le rat et surtout avec l'espèce humaine (CE, 2004).

- Hépatotoxicité

Une toxicité hépatique a été observée chez des rongeurs (rats et souris) exposés par inhalation (Carlson, 1974 ; Cornish et Adefuin, 1966 ; Heim *et al.*, 1966 ; Moslen *et al.*, 1977a et b cités dans US EPA, 2008 ; INERIS, 2017). Des augmentations significatives des concentrations d'enzymes sériques indicatrices d'altérations hépatiques (ASAT, ALAT) ont été observées chez des rats exposés à environ 10 000 ppm pendant 1 à 2h (Carlson, 1974 ; Cornish et Adefuin, 1966 cités dans CE, 2004 ; US EPA, 2008). Les examens histopathologiques ont mis en évidence de légers effets tels qu'un œdème, un élargissement des cellules, une infiltration lipidique et une nécrose focale (Adams *et al.*, 1951 ; Carlson, 1974 ; Cornish et Adefuin, 1966 cités dans CE, 2004 ; US EPA, 2008). Des augmentations transitoires des concentrations sériques d'ASAT, mais pas d'ALAT, ont également été observées chez des rats exposés à des concentrations plus faibles (100 à 1 000 ppm) pendant 6h (Deguchi, 1972 cité dans CE, 2004). Le prétraitement des rats avec de l'alcool, du phénobarbital ou d'autres inducteurs enzymatiques a augmenté la toxicité du TCE et l'ampleur des effets hépatiques observés (Carlson, 1974 ; Cornish et Adefuin, 1966 ; Molsen *et al.*, 1977a et 1977b cités dans CE, 2004 ; US EPA, 2008).

Chez la souris, des indications biochimiques de toxicité hépatique ont été observées après une exposition par inhalation unique à des concentrations de 800 ppm pendant 3h à 18 000 ppm pendant 1h (Gehring, 1968 ; von Heim *et al.*, 1966 ; Ogata *et al.*, 1968 cités dans CE, 2004 ; US EPA, 2008).

- Néphrotoxicité

Chez des rats F344 exposés à 0, 1 000 ou 2 000 ppm pendant 6h, une augmentation statistiquement significative de marqueurs urinaires aux deux concentrations a été observée, indiquant une altération des fonctions tubulaire et glomérulaire (glucosurie, protéinurie, enzymurie [NAG, γ GT], urée sérique) (Chakrabarti et Tuchweber, 1988 cité dans CE, 2004 ; US EPA, 2008 et ATSDR, 2014).

- Cardiotoxicité

White et Carlson ont exposé des rats Sprague Dawley (n = 5) pendant 1 heure à 25 000 ppm de TCE par inhalation et jusqu'à 4 μ g/kg pc d'adrénaline par intraveineuse jusqu'à l'apparition d'arythmie. Des arythmies cardiaques ont été observées uniquement chez les rats prétraités par un inhibiteur enzymatique (SKF 525A : inhibiteur de plusieurs isoenzymes du CYP450). Les mêmes essais ont été réalisés chez des lapins New Zealand (n = 2-7/groupe). Des arythmies

cardiaques ont été observées chez des rats et chez des lapins en réponse à 2 µg/kg pc d'adrénaline après 15 min d'exposition à 3 000 ppm de TCE (White et Carlson, 1979 cité dans CE, 2004 ; US EPA, 2008).

Dans une autre étude menée par la même équipe, des lapins New Zealand (n = 3/groupe) présentaient des arythmies induites par l'adrénaline (extrasystolie ventriculaire), suite à une exposition à 4 000, 6 000 et 8 000 ppm de TCE pendant 1 h. L'administration de 50 mg/kg d'hydrate de chloral par voie intraveineuse à 4 lapins a entraîné des concentrations sanguines de TCOH et d'acide trichloracétique respectivement 15 et 50 fois supérieures à celles obtenues suite à une exposition à 8 000 ppm de TCE, sans entraîner d'arythmie par administration d'adrénaline (White et Carlson, 1981a cité dans CE, 2004 et US EPA, 2008). Ces résultats suggèrent que le TCE, et non ses métabolites, sensibilise le cœur à l'adrénaline. Les lapins ayant ingéré 1 000 mg/kg pc d'éthanol 30 minutes avant l'exposition à 6 000 ppm de TCE pendant 1 h, ont développé des arythmies induites par l'adrénaline plus tôt et à des doses d'adrénaline plus faibles que ceux qui n'avaient pas reçu d'éthanol (White et Carlson, 1981b cité dans CE, 2004 et US EPA, 2008). Ainsi, l'ingestion d'éthanol potentialise les effets cardiaques du TCE. Cette potentialisation découlerait de l'inhibition compétitive de la biotransformation de l'hydrate de chloral en TCOH, ce qui entraîne une augmentation des concentrations du composé parent dans le sang (US EPA, 2008).

Des arythmies cardiaques ont été observées chez 7/12 chiens mâles Beagle exposés 10 min à 10 000 ppm de TCE et ayant reçu 8 µg/kg pc d'adrénaline par voie intraveineuse avant et pendant l'exposition au TCE. Des effets semblables ont été observés chez 1/12 chiens exposés à 5 000 ppm (Reinhardt *et al.*, 1973 cité dans CE, 2004 et US EPA, 2008).

- Immunotoxicité

Aranyi *et al.* (1986) ont étudié les effets d'une exposition par inhalation de souris sur leur susceptibilité à contracter expérimentalement une infection à streptocoques et une activité bactéricide pulmonaire contre *Klebsiella pneumoniae*. Les souris (n = 30/groupe) étaient exposées pendant 3h à 2,5 ; 5, 10, 25 ou 50 ppm. À 25 et 50 ppm, la mortalité due à la pneumonie streptococcique était considérablement plus élevée chez les souris exposées que chez les témoins. L'activité bactéricide a été réduite dès 10 ppm sans relation dose-réponse et cet effet n'est pas considéré comme lié au traitement (US EPA, 2008).

3.2.2 Irritation

• Irritation cutanée

○ Chez l'Homme

Le TCE est un irritant cutané. Un contact cutané répété entraîne un dégraissage cutané, un érythème et des lésions eczématiformes et des cas de dermatites exfoliatives généralisées ont été rapportés (Maloof, 1949 ; Irish, 1963 ; Schirren, 1971 ; Bauer et Rabens, 1974 ; Von Wuthrich, 1977 cités dans CE, 2004). Chez 4 volontaires sains exposés au TCE sous forme de liquide, des lésions cutanées ont également été observées (Sato et Nakajima, 1978 cité dans CE, 2004). Toutefois, aucun effet cutané n'a été détecté chez un volontaire exposé 18 jours au TCE par application cutanée sans occlusion (quantité non donnée) ; l'absence d'effet cutané est probablement due à l'évaporation du TCE à partir du site d'exposition (Wahlberg, 1984 cité dans CE, 2004).

- **Chez l'animal**

L'application pendant 24h de TCE non dilué entraîne une sévère irritation cutanée chez le lapin (Duprat *et al.*, 1976 ; Smyth *et al.*, 1969 cités dans CE, 2004). Une application quotidienne répétée de TCE non dilué (0,1 mL) sur la peau de 4 lapins ou 6 cobayes sans occlusion pendant 10 jours, a entraîné, dès le premier jour d'application, un érythème, un œdème et une augmentation des plis cutanés (Wahlberg, 1984 cité dans CE, 2004). Ces résultats sont confirmés par l'étude d'Anderson *et al.* chez le cobaye qui a montré un pouvoir irritant du TCE considéré, par les auteurs, comme équivalent à celui d'une solution de laurylsulfate de sodium à 2% (irritant connu) (Anderson, 1986 cité dans CE, 2004).

L'application locale de TCE (unique ou répétée) chez la souris BALB/c entraîne non seulement une irritation cutanée (érythème et œdème cutanés) accompagnée de modifications histopathologiques (hyperkératose, spongiose³, infiltration de cellules inflammatoires) mais aussi une élévation du stress oxydant cutané lors d'expositions aiguës (Shen *et al.*, 2008).

- **Irritation oculaire**

- **Chez l'Homme**

Un contact oculaire direct du TCE entraînerait des douleurs intenses et des lésions de l'épithélium de la cornée avec une guérison complète en quelques jours (Grant, 1974 cité dans CE, 2004). Un homme de 54 ans a ressenti des douleurs oculaires, suite à un accident ayant provoqué une immersion de la face, des épaules et de la poitrine dans du TCE, malgré un lavage immédiat à l'eau après le contact au TCE (Nakajima *et al.* 1987 cité dans CE, 2004). Enfin, chez un travailleur exposé à des vapeurs de TCE dans un milieu confiné pendant 15 à 20 minutes, une brûlure chimique de premier degré des conjonctives avec abrasion d'une des cornées ainsi qu'un érythème cutané sur l'ensemble du corps ont été observés. Aucune concentration d'exposition n'est relatée pour la survenue de ces effets. La guérison des lésions a été obtenue au bout de 11 jours sans aucun effet résiduel (Maloof, 1949 cité dans CE, 2004). Des études chez des volontaires exposés par inhalation au TCE ont mis en évidence une irritation oculaire (Stewart *et al.*, 1970 et 1974 ; Nomiyama et Nomiyama, 1977 ; Salvini *et al.*, 1971).

- **Chez l'animal**

Chez le lapin, l'application oculaire de 0,1 mL de TCE (pureté 99,5%) a entraîné une conjonctivite de sévérité légère à modérée avec une abrasion de l'épithélium et une kératose limitée avec guérison complète au bout de 2 semaines post-exposition (Duprat *et al.*, 1976 cité dans CE, 2004). La réversibilité du phénomène est cependant mise en doute par une expérience similaire montrant une nécrose (80-100% de la cornée) suite à l'application de la même quantité de TCE (Smyth *et al.*, 1969 cité dans CE, 2004).

³ Mécanisme entraînant la dissociation des cellules de l'épiderme et s'accompagnant d'une production de liquide qui forme des vésicules et qui s'écoule en dehors après rupture de celles-ci (source : Vulgaris-médical).

- **Irritation respiratoire**
 - **Chez l'Homme**

Stewart *et al.* ont mis en évidence une sensation d'irritation et de gorge sèche chez des volontaires exposés à 200 ppm (1090 mg.m⁻³) 7 h/jour pendant 5 jours et dès 50 ppm 4 h/jour pendant 3 jours (Stewart *et al.*, 1970 et 1974). Une irritation des muqueuses (nez et gorge) a été observée par Nomiyama et Nomiyama suite à une exposition unique de 4h à 27 ppm (148 mg.m⁻³) de TCE chez 12 volontaires (Nomiyama et Nomiyama, 1977). Cependant, ces effets n'ont pas été rapportés dans la plupart des autres études même à des concentrations supérieures.

3.2.3 Sensibilisation respiratoire et cutanée

- **Chez l'Homme**

Il n'existe pas de données sur la **sensibilisation respiratoire**.

Quelques rapports de cas indiquent des résultats positifs pour la **sensibilisation cutanée** (patch-tests) suite à une exposition au TCE. Quatre mois après une exposition au TCE ayant entraîné, entre autres, des effets cutanés (desquamation, érythrodermie), les patch-tests réalisés ont abouti à des réactions positives au TCE et au trichloroéthanol suggérant une hypersensibilité retardée (Nakayama *et al.*, 1988 cité dans CE, 2004). De même, des résultats positifs de patch-tests ont été obtenus chez une travailleuse qui avait été atteinte de démangeaisons intenses et de lésions érythémateuses induites par une exposition professionnelle au TCE (Conde-Salazar *et al.*, 1983 cité dans CE, 2004). Réexposée à 100 ppm de TCE, des lésions cutanées sont apparues sur le visage et les mains ainsi que des lésions vésiculo-pustuleuses au niveau du cou. Aucun métabolite du TCE n'a pu être détecté dans le sang.

Plusieurs études ont mis en évidence des cas de dermatite généralisée pouvant prendre plusieurs formes (exfoliative, érythémateuse, papulo-vésiculaire, *etc.*) et associer hyperthermie, éosinophilie simulant le syndrome de Stevens-Johnson (Bauer *et al.*, 1974 ; Escallier *et al.*, 1987 ; Phoon *et al.*, 1984 cités dans ATSDR, 2014). Cette réaction plutôt vasculaire peut aussi s'accompagner d'atteintes hépatiques (hépatite, ictère, hépatomégalie, hépatosplénomégalie) suite à des expositions au TCE (Xu *et al.*, 2009 ; Nakajima *et al.*, 1993 et 2008 ; Chittasobhaktra *et al.*, 1997 ; Nakayama *et al.*, 1988 cités dans US EPA, 2011). Ces effets, bien qu'adverses, peuvent refléter une irritation ou une réaction immuno-allergique et se compliquent, dans le cas du TCE, de manifestations systémiques.

En particulier, Kamijima *et al.* (2007) ont analysé 260 rapports de cas de patients présentant une affection cutanée généralisée liée à une exposition au TCE (syndrome d'hypersensibilité (n = 124), une variation de l'érythème polyforme, un syndrome de Stevens-Johnson et une nécrolyse épidermique toxique (n = 115), cas non classés dans les catégories précédentes (n = 21)). Une hépatite a été observée chez 92 à 94 % des patients présentant un érythème polyforme, un syndrome de Stevens-Johnson ou une nécrolyse épidermique toxique et chez 46 à 94% des patients présentant un syndrome d'hypersensibilité. Les données disponibles indiquent que les affections cutanées sur un même lieu de travail se présentaient chez 0,25-13% des travailleurs ayant le même type de travail. Les concentrations de TCE variaient entre entre <50 à > 4 000 mg.m⁻³ (9 à 720 ppm) (US EPA, 2011).

Ces études sont d'interprétation délicate car la pureté du TCE (types d'impuretés et d'adjuvants et leurs concentrations) n'est pas connue. Certains adjuvants du TCE sont sensibilisants comme par exemple les époxydes, les amines, etc. En outre, la quasi-totalité des cas connus sont survenus en Asie du sud-est, ce qui peut indiquer des spécificités des TCE commercialisés dans cette région du monde et/ou une prédisposition génétique.

- **Chez l'animal**

Aucune donnée n'est actuellement disponible sur la **sensibilisation respiratoire** chez les animaux de laboratoire.

Concernant la **sensibilisation cutanée**, les données penchent pour un mécanisme de sensibilisation cutanée associée à des pathologies auto-immunes.

Dans une étude *in vitro*, Dai *et al.* ont montré que le taux de survie des lymphocytes mis en culture avec du TCE en présence d'un système d'activation métabolique (S9) était plus élevé chez les cobayes sensibilisés au TCE (dermatite) que chez les animaux non sensibilisés (83,0% +/- 3,4% vs 63,4% +/- 8,4%, $p < 0,05$). Cette différence n'était pas significative sans activation (Dai *et al.*, 2005, abstract). L'activation métabolique a ainsi augmenté la prolifération de lymphocytes sensibilisés et la cytotoxicité du TCE sur les lymphocytes normaux. En 2004, la même équipe a mis en évidence, grâce à un test de maximisation chez le cobaye, un taux de sensibilisation de 66,7% (Dai *et al.*, 2005 ; abstract). De plus, le niveau sérique d'IgG était significativement plus élevé chez les animaux sensibilisés que chez les témoins ($p < 0,05$) suggérant un rôle de l'immunité dans le développement de la dermatite induite par le TCE. Ces observations sont d'interprétation difficile car dans les documents accessibles, la pureté du TCE utilisé et la nature de ces adjuvants ne sont pas précisées.

Tang *et al.* ont observé, chez le cobaye, la survenue d'hépatites auto-immunes (cytolyse hépatique) accompagnées d'irritation cutanée suite à des injections intradermiques de TCE (0, 167, 500, 1 500 et 4 500 mg.kg⁻¹ ; pureté 99,9 %) ou à l'application de patch-tests cutanés de TCE (0 et 900 mg.kg⁻¹) (Tang *et al.*, 2008). Le test de maximisation chez le cobaye était positif dans 66% des cas. Dans une étude précédente chez le cobaye, Tang *et al.* ont réalisé un test de maximisation chez le cobaye avec un taux de sensibilisation de 71,4% pour le TCE, 58,3% pour le TCA et 0% pour le trichloroéthanol et l'hydrate de chloral (Tang *et al.*, 2002 cité dans US EPA, 2011). Les analyses histopathologiques ont mis en évidence des lésions évocatrices d'un mécanisme allergique au niveau de la peau de cobaye par le TCE et le TCA. Ainsi, le TCE semble être un puissant allergène et le TCA un allergène modéré. Les deux articles n'indiquent pas si le TCE utilisé était stabilisé par des adjuvants, dont on sait que plusieurs de ceux couramment utilisés ont un fort pouvoir sensibilisant.

3.3 Toxicité subchronique et chronique par inhalation

3.3.1 Effets neurologiques

Le Tableau 7 présente une synthèse des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques par inhalation avec des données quantitatives sur les niveaux d'exposition au TCE.

Tableau 7 : Synthèse des effets neurologiques observés dans des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques (inhalation) au TCE (US EPA, 2011)

Références	Population	Durée d'exposition	Concentrations	Effet critique
El Ghawabi <i>et al.</i> (1973)	Travailleurs dans imprimerie de monnaie (n = 30) en Égypte Groupe contrôle : 20	Chronique (de moins de 1 an à 9 ans)	Concentrations moyennes entre 41 et 163 ppm	Pas d'effet rapporté sur les fonctions du nerf trijumeau
Okawa et Bodner (1973)	20 travailleurs Groupe contrôle = 9	Subchronique <i>Pas de temps d'exposition précisé</i>	71 mg.L ⁻¹ TCA urinaire en moyenne ≅ 20 - 30 ppm*	SNC : nausée, maux de tête, fatigue,...)
Vandervort et Pelakoff (1973)	travailleurs exposés de manière discontinue	Chronique (8 ans)	32 ppm	SNC : somnolence, fatigue, irritation oculaire
Triebig (1978)	7 travailleurs	Chronique	Entre 20 et 40 ppm	Pas de différence statistiquement significative pour la vitesse de conduction nerveuse entre exposés et témoins
Triebig <i>et al.</i> (1982)	31 travailleurs Groupe contrôle : 144	Chronique (exposition entre 1 et 258 mois avec 83 mois en moy.)	Entre 5 et 70 ppm	Pas de différence statistiquement significative pour la vitesse de conduction nerveuse entre exposés et témoins.
Barret (1982)	11 travailleurs Contrôle : 20	Chronique (durée non rapportée dans la publication)	TCE et TCA retrouvés dans les urines	Suite à une stimulation du nerf trigéminal, un voltage plus important était nécessaire pour obtenir une réponse normale et il y avait une augmentation significative du temps de réponse et une diminution de l'amplitude.
Barret <i>et al.</i> (1987)	104 dégraisseurs Groupe contrôle : 52	Chronique Durée moy. : 8,2 ans	Moyenne TCOH : 162-245 mg/g créatinine Moyenne TCA 93-131 mg/g créatinine	Suite à une stimulation, les réponses trigéminales ont montré une augmentation du temps de latence, et de l'amplitude (corrélation avec la durée de l'exposition et l'âge, mais pas la concentration)
Landrigan et Kominsky (1987)	12 travailleurs	Chronique (entre 4,4 et 9,4 ans)	entre 22 et 66 ppm (moyenne : 38 ppm)	Fatigue, perte de sommeil, irritation oculaire, diminution de la coordination...
Ruijten <i>et al.</i> (1991)	31 travailleurs, groupe contrôle : 28	Chronique (moy. =16 ans)	44 ppm (calculé à partir de la moyenne des expositions cumulées)	Effets sur le SNC : Modification de la fonction nerveuse du nerf trijumeau
Rasmussen <i>et al.</i> (1993a)	96 travailleurs (Danemark) Pas de contrôle	Chronique (moy. = 7 ans)	-7,7 mg.L ⁻¹ TCA urinaire dans le groupe le plus exposé	SNC : incoordination motrice, altération de la fonction auditive, visuelle et cognitive (dose dépendante)
Mhiri <i>et al.</i> (2004)	23 travailleurs exposés Groupe contrôle : 23	Chronique (6 h/j pendant au moins 2 ans)	Entre 50 et 150 ppm (79,3 +/- 42 mg.L ⁻¹ TCA urinaire en moy.)	Augmentation du potentiel évoqué sensitif du nerf trijumeau chez 15 des 23 travailleurs exposés (65 %)
Murata <i>et al.</i>	57 travailleurs	Subchronique –	Niveaux médians :	Les paramètres de

(2010)	Groupe contrôle : 60	chronique 0,1 – 37 ans	1,7 mg/L pour le TCOH et 2,5 mg/L pour le TCAA et la concentration ambiante maximale de TCE a été estimée <22 ppm	balancement postural avec les yeux ouverts, et l'intensité des tremblements dans la main dominante étaient significativement plus importants chez les travailleurs exposés
--------	----------------------	------------------------	---	--

* Les concentrations atmosphériques ont été estimées à partir des concentrations en TCA urinaire en utilisant l'hypothèse que 50 mg/L est équivalent à 20 ppm.

3.3.1.1 Trouble de la conduction nerveuse

- Chez l'Homme

Plusieurs études ont examiné l'intégrité du nerf trijumeau suite à une exposition au TCE.

Feldman *et al.* (1992) a montré une augmentation significative du temps de réponse aux stimuli générant le réflexe de clignement des yeux chez les 18 sujets exposés qui était persistante, et a mis en évidence que les effets neuropathiques du TCE étaient spécifiques du nerf trijumeau plutôt que généralisés.

Ruijten *et al.* ont constaté une augmentation du réflexe masséter indiquant une altération des fonctions du nerf trijumeau, mais pas de prolongation du réflexe de clignement des yeux chez 31 travailleurs d'une imprimerie comparativement à un groupe témoin constitué de 28 ouvriers non-exposés du même établissement (Ruijten *et al.*, 1991 cité dans US EPA, 2001).

Barret *et al.* (1987) (cité dans US EPA, 2011), ont mesuré les potentiels évoqués somatosensoriels trigéminaux (TSEP) suite à une stimulation du nerf trijumeau, et ont rapporté une réponse retardée statistiquement significative sur les potentiels évoqués chez 104 sujets exposés comparés à 52 sujets non exposés.

Mhiri *et al.* (2004) ont évalué la toxicité du TCE sur le nerf trijumeau. Ainsi, 23 travailleurs exposés au TCE (12,4 ans +/- 8,3) et 23 témoins se sont soumis à des examens cliniques, toxicologiques et biologiques. Les travailleurs présentaient déjà des effets tels que des paralysies faciales. L'évaluation de l'exposition est peu détaillée et les auteurs estiment des niveaux de concentration entre 50 et 150 ppm. Les auteurs notent une corrélation entre la durée d'exposition au TCE et l'augmentation de la dépolarisation membranaire du nerf trijumeau, cet effet a été jugé comme précurseur d'atteintes neurologiques.

Une étude sur 96 dégraisseurs (pas de groupe témoin) n'a pas montré d'effet significatif de l'exposition au TCE sur la fonction du nerf trijumeau (Rasmussen *et al.*, 1993a). L'absence de groupe contrôle diminue néanmoins la sensibilité de cette étude.

Les mesures pratiquées sur les nerfs radial et ulnaire d'un groupe réduit de 7 travailleurs exposés à des concentrations de vapeurs de 20-40 ppm sur des périodes de 6 mois à 9 années ne montrent aucune différence avec un groupe témoin (Triebig, 1978 cité dans US EPA, 2011). Les mêmes auteurs ont renouvelé l'expérience sur 24 travailleurs exposés professionnellement à des concentrations de TCE allant de 5 à 70 ppm (Triebig, 1982 cité dans US EPA, 2011). Aucune différence statistiquement significative de vitesse de conduction du nerf ulnaire n'a été mise en évidence entre les sujets exposés et les non exposés.

Triebig *et al.* (1982, 1984 cité dans US EPA 2011) ont étudié la vitesse de conduction nerveuse chez des travailleurs exposés au TCE, ne présentant aucun historique de neuropathie. Les auteurs n'ont observé aucune différence statistiquement significative de la vitesse de conduction nerveuse entre exposés et témoins.

Une réduction de la vitesse de conduction nerveuse du nerf sural a également été constatée par Ruijten *et al.* (1991 cité dans US EPA, 2001). Chez ces travailleurs exposés depuis plus de 6 ans (35-70 ppm 3 ans avant l'étude puis 17 ppm après substitution de l'encre incriminée), aucune altération des fonctions nerveuses autonomes ou périphériques n'a été détectée et le questionnaire n'a révélé aucune neuropathie.

Ces atteintes trigéminales ne seraient pas directement imputables au TCE, mais plutôt à un produit de dégradation en milieu basique, le dichloroacétylène (INRS, 2007).

3.3.1.2 Effets sur la fonction cognitive

- **Chez l'Homme**

Rasmussen *et al.* (1993c) ont mis en évidence des troubles de la fonction cognitive par le biais de différents tests, et notamment une augmentation de l'incidence du syndrome psycho organique.

Chez 2 dégraisseurs exposés 3 et 8 mois à des concentrations inconnues de TCE, Troster et Ruff (1990, cité dans US EPA, 2011) ont mis en évidence une diminution des performances cognitives (mesurées par le « San Diego Neuropsychological Test Battery ») par rapport au groupe contrôle. Les tests avaient été réalisés 4 mois après la fin de l'exposition pour la première personne, et 13 et 22 mois pour la seconde.

3.3.1.3 Effets psychomoteurs

- **Chez l'Homme**

Murata *et al.* (2010, cité dans ATSDR, 2014) ont trouvé une association significative entre le « balancement » postural les yeux ouverts ainsi que l'intensité des tremblements de la main dominante et la concentration de trichloroéthanol dans les urines dans une investigation sur 57 travailleurs exposés 0,1 – 37 ans à des concentrations maximales inférieures à 22 ppm en comparaison avec un groupe contrôle. De plus, une relation dose-réponse peut être mise en évidence, puisque l'intensité totale des tremblements de la main non dominante différait significativement entre les trois groupes de travailleurs (classés selon l'indice d'exposition cumulée : TCE urinaire en mg/L multiplié par la durée de travail en années). Les tests étaient réalisés le vendredi à la fin de la journée de travail. Ces résultats semblent indiquer que même de faibles expositions professionnelles peuvent affecter la fonction neuromotrice.

- **Chez l'animal**

Waseem *et al.* ont observé une augmentation de l'activité motrice spontanée chez des rats Wistar exposés à des vapeurs de TCE (376 ppm, 4 h/j, 5j/semaine durant 180 jours) (Waseem, 2001 cité dans NRC, 2006). Ces effets ne sont pas observés suite à l'ingestion de TCE *via* l'eau de boisson (jusqu'à 700 ppm durant 90 jours). Les expositions répétées au TCE peuvent affecter l'attention soutenue mais ne semblent pas produire une détérioration résiduelle du comportement.

3.3.1.4 Effets sur l'humeur et troubles du sommeil

- **Chez l'Homme**

Dans une étude décrite précédemment (cf. §3.2.1.1), 9 des 12 travailleurs exposés avec une période d'emploi entre 4,4 et 9,4 années ont été soumis à un examen médical (versus 9 témoins). Sept personnes exposées et 1 témoin ont rapporté des symptômes (fatigue, perte de sommeil, irritation oculaire, ...). Après 3 mois avec des expositions réduites (moyenne à 16 ppm) et des pics

d'exposition à 74 ppm, le nombre de symptômes rapportés a légèrement diminué (Landrigan et Kominsky, 1987 cité dans US EPA, 2011).

- Chez l'animal

Parmi les études subchroniques, le NRC (2006) a identifié la plus faible concentration de TCE associée à des effets sur le système nerveux à partir d'une étude d'Arito *et al.* (Arito *et al.*, 1994 cité dans NRC, 2006). Des rats ont été exposés par voie respiratoire 8 heures par jour, 5 jours par semaine et pendant 6 semaines. Les effets recensés incluent une diminution de l'attention et une perturbation des cycles de sommeil. Les rats présentaient une diminution du rythme cardiaque pendant le sommeil, 22 heures après l'exposition. Les effets ont été observés à des expositions de 50 ppm, 100 ppm et 300 ppm sans relation dose-effet. De plus, les effets sur le sommeil ont persisté pendant les 6 semaines d'exposition (pas d'adaptation), et après l'arrêt de l'exposition à partir de 100 ppm.

Waseem *et al.* ont également observé une diminution des durées de sommeil chez les rats exposés à des vapeurs de TCE (376 ppm, 4 h/j, 5j/semaine durant 180 jours) (Waseem, 2001 cité dans NRC, 2006).

3.3.1.5 Effets sur la vision/l'audition

- Chez l'Homme

Des effets autres que comportementaux, mais toujours associés à des atteintes nerveuses, ont été étudiés. Des altérations auditives (fréquences à 4 kHz) associée à l'exposition au TCE ont été diagnostiquées chez des travailleurs. Cependant, ces hypoacusies pourraient être aussi attribuables au niveau sonore élevé dans les ateliers concernés (De Rosa, 1971 cité dans CE 2004). Cette étude présente cependant des limites importantes, puisque qu'aucune donnée sur les niveaux d'exposition au TCE n'était disponible, et il n'y avait pas de groupe contrôle. Szulc-Kuberska *et al.* ont mentionné des effets similaires chez 26 travailleurs parmi 40 ayant déjà présenté des symptômes caractéristiques d'atteintes du système nerveux central suite à une exposition au TCE (pas de donnée d'exposition) (Szulc-Kuberska *et al.*, 1972 et 1976 cités dans CE, 2004). Les tests audiométriques indiquaient des pertes d'audition pour des fréquences situées entre 2 et 3 kHz et une prévalence des hypoacusies dépendante de la durée d'exposition. L'âge apparaît cependant comme un biais possible à cette interprétation. Vyskocil *et al.* (2008) estiment qu'aucune étude chez l'Homme ne permet d'apprécier correctement l'interaction ototoxique entre bruit et exposition au TCE.

Rasmussen *et al.* (1993c) ont noté, *via* le test « *acoustic-motor function* », des troubles de l'audition chez des travailleurs exposés au TCE. Cette même étude a également mis en évidence un déficit de la vision chez les travailleurs du groupe le plus exposé.

- Chez l'animal

Une perte auditive a été constatée chez des rats F344, mâles et femelles, exposés au TCE à 250, 800 et 2 500 ppm, 6 heures par jour, 5 jours par semaine durant 13 semaines. La NOAEC proposée par les auteurs est de 800 ppm pour une diminution de la fonction auditive et une perte de cellules cochléaires (Albee, 2006 cité dans US EPA, 2011). Deux autres études par exposition subchronique sont disponibles pour cet effet (Rebert *et al.*, 1991 cité dans US EPA, 2011 ; Crofton et Zhao, 1997). Dans ces deux études, la fonction auditive a été étudiée par l'utilisation de

potentiels évoqués auditifs. Elles identifient une NOAEC plus élevée de 1 600 ppm. Vyskocil *et al.* (Vyskocil *et al.*, 2008) ont fait une revue de la littérature sur les effets d'une exposition au TCE à de faibles niveaux sur l'audition. Chez le rat, les auteurs notent que la substance affecte la fonction auditive principalement *via* des atteintes cochléaires pour les fréquences moyennes à fortes avec une LOAEC de 2000 ppm. D'autres études explorent la fonction auditive, mais pour des expositions plus courtes (5 jours à 4 semaines). Mis à part une étude chez le cobaye (Yamamura *et al.*, 1983 cité dans US EPA, 2011), elles confirment toutes le potentiel toxique sur la fonction auditive du TCE (Rebert *et al.*, 1991, 1993 et 1995, Crofton *et al.*, 1994, Boyes *et al.*, 2000 ; Fechter *et al.*, 1998 ; Jaspers *et al.*, 1993 ; Muijser *et al.*, 2000 cités dans US EPA, 2011) (Tableau 8).

Tableau 8 : Synthèse des effets sur la vision/l'audition observés dans des études animales pour des expositions subchroniques et chroniques (inhalation) au TCE (US EPA, 2011)

Référence	Espèce	Protocole	Concentrations	Effets observés	Concentration critique (ppm)
Albee, 2006	Rats F344	6 h/j, 5j/s, 13 semaines	250, 800 et 2 500 ppm	Perte auditive dans les fréquences moyennes Pas d'effet sur le poids corporel	NOAEC = 800 LOAEC = 200
Rebert <i>et al.</i> , 1991	Rat Long-Evans	12 h/j, 12 semaines	0, 1600, 3200 ppm	Diminution significative de l'amplitude des BAER (potentiels évoqués auditifs du tronc cérébral) et augmentation du délai d'apparition du pic initial	NOAEC = 1 600 LOAEC = 3 200
	Rat F344	12 h/j, 3 semaines	0, 2000, 3200 ppm		LOAEC = 2 000
Rebert <i>et al.</i> , 1993	Rat Long-Evans	8 h/j, 5 jours	0, 2000, 3000, 3500 ppm	Diminution significative de l'amplitude des BAER	NOAEC = 2 500 LOAEC = 3 000
Rebert <i>et al.</i> , 1995	Rat Long-Evans	8 h/j, 5 jours	0, 2800 ppm	Perte d'audition de 55 à 85 dB	LOAEC = 2 800
Crofton <i>et al.</i> , 1994	Rat Long-Evans	8 h/j, 5 jours	0, 3500 ppm	Altération sélective de la fonction auditive pour les fréquences moyennes (8 et 16 kHz)	LOAEC = 3 500
Crofton et Zhao, 1997 Boyes <i>et al.</i> , 2000	Rat Long-Evans	6 h/j, 5j/s, 13 semaines	0, 800, 1600, 2400 et 3200 ppm	Les seuils auditifs mesurés par les BAER pour la fréquence de 16 kHz ont été augmentés	NOAEC = 1 600 LOAEC = 2 400
		6 h/j, 5j	0, 1600, 2400, 3200 ppm		NOAEC = 2 400 LOAEC = 3 200
		6 h/j, 5 j/s 4 semaines	0, 800, 1600, 2400, 3200 ppm		NOAEC = 2 400 LOAEC = 3 200
Fechter <i>et al.</i> , 1998	Rat Long-Evans	6 h/j, 5 jours	0, 4000 ppm	Perte de cellules du ganglion spiral. La fonction auditive était significativement diminuée 3 semaines après l'exposition, mesuré par le potentiel d'action du composé et la modification de reflexe.	LOAEC = 4 000
Jaspers <i>et al.</i> , 1993	Rat Wistar	18 h/j, 5 j/s, 3 semaines	0, 1500, 3000 ppm	Diminution de la sensibilité auditive à 20 kHz, 3000 ppm	NOAEC = 1 500

Muijser <i>et al.</i> , 2000	Rat Wistar	18 h/j, 5 j/s, 3 semaines	0, 3000 ppm	Sensibilité auditive diminuée à 4, 8, 16 et 20 kHz.	LOAEC = 3 000
Yamamura <i>et al.</i> , 1983	Cobaye Hartley	4 h/j, 5 jours	0, 6000, 12000, 17000 ppm	Aucune modification de la sensibilité auditive (cobaye moins sensible à la toxicité auditive que le rat)	NOAEC = 17 000
The Dow Chemical Company, 1993	Rats F344	7 h/j, 5 j/s, 13 semaines	0, 250, 800 et 2500 ppm	augmentation du potentiel évoqué visuel	NOAEC = 250 LOAEC = 800
Kulig, 1987	Rats	18 semaines	0, 500, 1000, 1500 ppm	Augmentation du temps de latence de la discrimination visuelle	NOAEC = 500 LOAEC = 1 000
Blain <i>et al.</i> , 1994	Lapins	4 h/j, 4 j/s, 12 semaines	0, 350, 700 ppm	Modifications neuro-ophtalmologiques	LOAEC = 350

3.3.1.6 Maladies neuro dégénératives

- Chez l'Homme

Plusieurs rapports ont suggéré un lien entre exposition au TCE et maladie de Parkinson.

Guehl *et al.* ont décrit le cas d'une femme de 47 ans atteinte qui avait été exposée durant une période de 7 ans (Guehl *et al.*, 1999 cité dans US EPA, 2011). Sans conclusion, les auteurs soulignent notamment le jeune âge de la personne et le fait que cette pathologie concerne particulièrement les hommes. Une autre étude de Kochen *et al.* (Kochen *et al.*, 2003 cité dans US EPA, 2011) décrit 3 cas de personnes exposées de manière chronique au TCE et souffrant de la maladie.

Dans une étude pionnière, Gash *et al.* ont investigué la possible relation entre exposition long terme au TCE et survenue de la maladie de Parkinson (Gash *et al.*, 2007 cité dans US EPA, 2011). L'examen de 30 travailleurs d'un atelier de dégraissage a permis de diagnostiquer cette pathologie pour les 3 sujets occupant les postes adjacents à la source de TCE et soumis par inhalation et contact cutané à des expositions chroniques au produit. Des symptômes de la maladie de Parkinson (ralentissement moteur) ont été identifiés pour les autres sujets travaillant à distance plus grande de cette source. Ces travaux sont accompagnés d'expérimentations animales présentées ultérieurement. En effet, une hypothèse biologique a été avancée par Riederer *et al.*, suggérant la formation de TaClo (1-trichlorométhyl-1,2,3,4-tétrahydro- β -carboline), une neurotoxine dopaminergique potentielle qui se forme après une exposition au TCE (Riederer *et al.*, 2002 cité dans US EPA, 2011).

Goldman *et al.* (2012) ont examiné l'association possible entre une exposition à des solvants et le risque de maladie de Parkinson. Quatre-vingt-dix neuf paires de jumeaux dont un présentant la maladie de Parkinson et l'autre non, ont été interviewés concernant leurs activités professionnelles et loisirs tout au long de leur vie. Dans cette étude, l'exposition au TCE était associée à une augmentation significative du risque de maladie de Parkinson (OR = 6,1 ; IC_{95%} = 1,2-33 ; p = 0,034).

- Chez l'animal

Gash *et al.* (2008) ont conduit une étude afin de déterminer si l'exposition au TCE est neurotoxique pour le système dopaminergique nigro-striatal, conduisant à la maladie de Parkinson. Les résultats indiquent qu'une administration orale de 1000 mg.j⁻¹ pendant 6 semaines chez des rats mâles

F344 âgés de 5 mois (n = 17) a conduit notamment à une perte de neurones dopaminergiques et une dégénérescence des fibres nigro-striatales.

3.3.1.7 Mode d'action

Concernant le mode d'action, la littérature actuelle indique que la substance induit de multiples effets sur le système nerveux impliquant différents mécanismes d'action. À titre d'exemple, les modifications liées à l'apprentissage ou la mémoire peuvent être dues à l'impact de la substance sur la potentialisation à long terme, qui est considérée comme la base neurophysiologique de l'apprentissage. Le TCE est susceptible d'altérer certains récepteurs, notamment les récepteurs au GABA_A (Shih *et al.*, 2001 cité dans NRC, 2006) ou les systèmes de neurotransmetteurs sérotoninergiques (Gerlach *et al.*, 1998 ; Lopreato *et al.*, 2003 cités dans NRC, 2006). Le NRC (2006) évoque également d'autres cibles et impacts potentiels, notamment les récepteurs dopaminergiques (Oshiro *et al.*, 2004 cité dans NRC, 2006), le stress oxydatif ou l'activation de proliférateurs de peroxyosomes (récepteurs PPAR α dans le cerveau).

Concernant les effets sur le nerf trijumeau, il a été suggéré une action du dichloroacétylène, un produit de dégradation du TCE formé dans certaines conditions de conservation (forte température ou alcalinité). Selon l'US EPA (2011), cette hypothèse serait plausible suite à une exposition par inhalation dans des conditions permettant sa formation. Cependant, le dichloroacétylène n'a pas été identifié ou mesuré dans les études épidémiologiques disponibles, et ne semble donc pas être commun. De plus, des modifications du nerf trijumeau ont été notées dans de nombreuses études humaines dans des conditions très variées au regard de la formation potentielle de dichloroacétylène. L'US EPA considère donc que le mécanisme reste inconnu et que le TCE resterait donc l'agent étiologique responsable des effets observés sur le nerf trijumeau (US EPA, 2011).

Pour ce qui est de la perte auditive, les effets du TCE ont été rapprochés de ceux de certains hydrocarbures aromatiques comme l'éthylbenzène ou le toluène. L'atteinte chimique conduit à la destruction des cellules ciliées. Plus récemment, il a été suggéré un blocage des récepteurs neuronaux nicotiques présents dans les cellules auditives, et des changements potentiels dans la transmission de calcium (US EPA, 2011).

L'US EPA indique enfin que le TCE et certains de ses métabolites comme l'hydrate de chloral sont déprimeurs du système nerveux central, ce qui pourrait expliquer certains effets comportementaux. De plus, des études *in vitro* ont démontré que l'exposition au TCE induit des changements sur les fonctions des récepteurs neuronaux à GABA_A, glycine, et sérotonine. Ces données suggèrent que certaines fonctions comportementales sont médiées par des modifications au niveau des canaux ioniques (US EPA, 2011).

L'exposition postnatale (de la naissance jusqu'à 6 semaines) de souris mâles au TCE a eu pour conséquence une altération de l'homéostasie redox du glutathion, et une augmentation dose dépendante des précurseurs de glutathion dans l'hippocampe, l'altération des métabolites plasmatiques impliqués dans les voies de transsulfuration et transméthylation, une augmentation significative des niveaux de 3-nitrotyrosine dans le plasma et l'hippocampe et une diminution significative de l'expression des facteurs neurotrophiques clés. Ces données suggèreraient que la neurotoxicité du TCE serait médiée par la modulation de l'expression des gènes de la neurotrophine (Blossom *et al.*, 2012).

3.3.2 Effets rénaux

- Chez l'Homme

Les publications chez l'Homme concernant l'impact du TCE sur la fonction rénale concernent principalement des modifications de marqueurs non spécifiques de la néphrotoxicité. Les études chez l'Homme présentent des limites, en particulier au niveau de l'exposition (peu ou pas de données) et la présence de co-exposition.

Plusieurs études transversales ont mis en évidence une augmentation de l'excrétion urinaire de protéines dont plusieurs études réalisées chez des individus diagnostiqués pour un cancer rénal ce qui limite leur interprétation. Brüning *et al.* (1999a) ont mis en évidence une augmentation des concentrations urinaires d' α -1-microglobuline et une protéinurie élevée chez des patients présentant un cancer rénal exposés au TCE (95% des patients exposés (39 sur 41) : 85% présentaient une protéinurie tubulaire, 2% une protéinurie glomérulaire et 7% un profil combiné), en comparaison à des cas de cancer rénal non exposés ($n = 50$) et des témoins ($n = 100$) (Brüning *et al.*, 1999a). Bolt *et al.* (2004) ont mesuré l'excrétion urinaire d' α -1-microglobuline chez des patients atteints de cancer des cellules rénales ($n = 134$) et des témoins ($n = 340$). Une augmentation de l' α -1-microglobuline a été observée chez les patients par rapport aux témoins (Bolt *et al.*, 2004).

Parmi des travailleurs atteints de carcinomes des cellules rénales, Brüning *et al.* ont montré que tous les travailleurs exposés au TCE ($n = 17$) présentaient des atteintes rénales tubulaires ou glomérulaires (51% chez les non-exposés) (Brüning *et al.*, 1996). Dans la continuité de cette étude, ces auteurs ont mesuré les concentrations urinaires d' α -1-microglobuline et de glutathion S-transférase (GST) α , considérés comme des marqueurs d'atteinte tubulaire proximale. Les concentrations mesurées chez 39 travailleurs exposés étaient 2 à 3 fois supérieures à celles du groupe non exposé ($n = 46$) (Brüning *et al.*, 1999b cité dans NRC, 2006). En revanche, aucune modification des protéines totales et de la GST π n'a été observée. Dans une autre étude, Brüning *et al.* ont observé une augmentation du risque de protéinurie chez les travailleurs masculins exposés au TCE comparés à des témoins (protéinurie tubulaire grave chez 35% des travailleurs exposés et chez aucun des non exposés, protéinurie tubulaire légère chez 20% des travailleurs exposés et 2% des non exposés.) En revanche, les concentrations urinaires de GST π , considéré comme un marqueur d'atteinte tubulaire distale, n'étaient pas différentes chez les sujets exposés et non exposés (Brüning *et al.*, 1999b cité dans NRC, 2006). De légères augmentations des concentrations urinaires d'albumine constatées chez 8 travailleurs exposés accidentellement au TCE (concentrations de 230 à 380 ppm dans la zone de travail) ont été rapportées (Nomura, 1962 cité dans NRC, 2006).

Green *et al.* (2004) ont réalisé une étude transversale chez 70 travailleurs (vs 54 témoins). L'exposition a été estimée à partir des concentrations urinaires en TCA. Les auteurs indiquent qu'il existait une corrélation entre l'exposition externe au TCE et les concentrations urinaires de TCA et estiment qu'une concentration de 100 mg/L de TCA correspondait à une exposition à 50 ppm de TCE. Aucun effet néphrotoxique clinique n'a été observé pendant cette étude, sans doute du fait de l'importante réserve fonctionnelle des reins. Néanmoins, des effets rénaux infracliniques mineurs statistiquement significatifs ont été observés chez des travailleurs exposés en moyenne à 32 ppm de TCE (0,5-252 ppm) pendant 4,1 ans en moyenne (1 – 20 années). Le faible accroissement de la GST- α urinaire avec les concentrations urinaires en TCA et non avec la durée d'exposition semble refléter des modifications rénales récentes, voire contemporaines de l'exposition, et possiblement réversibles. En outre, la corrélation statistiquement significative entre,

d'une part les concentrations urinaires d'acide formique, d'acide méthylmalonique et le TCA, et d'autre part entre l'acide formique et la GST- α sont en faveur d'un lien mécanistique entre ces paramètres. Aucune différence entre les individus exposés et non exposés n'a été observée pour l' α 1-microglobuline, la β 2-microglobuline et la GST α . Les auteurs suggèrent que les métabolites du TCE induisent un déficit en vitamine B12 conduisant à un excès d'acide formique et d'acide méthylmalonique. Ces acides pourraient contribuer à une néphrotoxicité par acidose cellulaire, dont l'élévation de GST- α serait le reflet. Green *et al.* ont également mis en évidence un excès significatif de marqueurs urinaires de néphrotoxicité (NAG) parmi les travailleurs exposés, mais sans corrélation avec les concentrations urinaires de TCA. Les auteurs évoquent eux-mêmes un effet du hasard, ou un lien avec d'autres facteurs d'exposition non pris en compte (Green *et al.*, 2004). À noter que cette publication a été soutenue financièrement notamment par l'association européenne des solvants chlorés (European Chlorinated Solvents Association). Lock et Reed suggèrent, sur la base des résultats de l'étude de Green *et al.* (2004), qu'il existe un seuil de 250 ppm pour la néphrotoxicité chez l'Homme (Lock et Reed, 2006).

Dans une autre étude réalisée par Seldén *et al.* (1993), 29 travailleurs suédois dans le domaine du dégraissage étaient exposés au TCE. Quatre-vingt-six pour cent (86%) des concentrations moyennes dans l'air représentatives d'une exposition 8 heures étaient inférieures à 50 mg.m⁻³. La médiane des concentrations ajustées sur le temps était de 16 mg.m⁻³ (3 ppm) et la moyenne de 27 mg.m⁻³ (5 ppm). Les auteurs indiquent que la durée d'exposition sur la semaine variait entre 0 et 32 heures (médiane = 6 heures ; moyenne arithmétique = 11,3 heures), indiquant un profil d'exposition très intermittent. Aucune augmentation de l'excrétion de la NAG n'a été observée. Ces niveaux d'exposition apparaissent comme un seuil d'effets rénaux précliniques.

Rasmussen *et al.* ont mis en évidence une association entre l'augmentation des concentrations urinaires de NAG et la durée d'exposition chez des travailleurs dans le secteur du dégraissage de métaux exposés aux solvants dont principalement le TCE (n = 70, pas de témoin) exposés en moyenne à 5 ppm (mesure individuelle ; temps d'exposition moyen de 7,1 ans, 24h/semaine) (Rasmussen *et al.*, 1993b).

Nagaya *et al.* ont mis en évidence une augmentation de β 2-microglobuline et des protéines totales urinaires chez des travailleurs de l'industrie du dégraissage des métaux et des semi-conducteurs exposés au TCE (n = 104, durée de travail : 8,4 ± 7,9 ans) par rapport à des individus non exposés (n = 102) (Nagaya *et al.*, 1989).

Dans une étude sur 80 travailleurs exposés au TCE et 45 non-exposés dans plusieurs usines en Chine, les travailleurs exposés en moyenne à 22 ppm (mesure atmosphérique sur 2 semaines avant la collecte d'urine) présentaient une augmentation de 50% de KIM-1 (Kidney injury molecule-1) par rapport aux non-exposés (Vermeulen *et al.*, 2012). KIM-1 est une protéine transmembranaire exprimée dans les cellules épithéliales tubulaires proximales rénales différenciées dans des régions endommagées. En revanche, aucune différence significative des autres marqueurs de toxicité rénale (GST α et π , NAG, créatinine, facteur de croissance endothélial vasculaire) n'était mise en évidence entre les exposés et les non-exposés (Vermeulen *et al.*, 2012).

L'augmentation de ces marqueurs suggère que le TCE peut altérer principalement les tubules proximaux rénaux.

Radican *et al.* (2006) rappellent que plusieurs études cas-témoins suggèrent que des travailleurs exposés au TCE sont plus susceptibles d'être atteints de pathologies rénales à un stade avancé (pathologie rénale chronique nécessitant une dialyse ou une transplantation). Les auteurs ont

réalisé une étude de cohorte rétrospective chez des travailleurs de l'aéronautique exposés au TCE et à d'autres substances (n = 56) et des témoins (n = 71), identifiés dans des bases de données (données sur les anciens employés civils de la base aérienne Hill de l'Utah, sur la mortalité provenant du National Death Index et sur l'incidence de l'insuffisance rénale terminale provenant de la base de données du U.S. Renal Data System). Pour la période de 1973 à 1999, les auteurs ont mis en évidence une augmentation du risque néphrotoxique (insuffisance rénale terminale) pour les travailleurs exposés au TCE par rapport aux témoins (OR = 1,92 ; IC_{95%} = 1,03-3,59). L'interprétation reste cependant difficile en raison de co-expositions, de difficultés pour estimer l'exposition, d'une atténuation inexplicite du risque entre 2001 et 2002, de facteurs confondants (diabète ou hypertension) (Radican *et al.*, 2006). Dans une autre étude de cohorte rétrospective (Jacob *et al.*, 2007), le risque d'évolution de glomérulonéphrite en insuffisance rénale terminale était 2 fois plus important chez les travailleurs exposés au TCE (n = 21) quelle que soit l'intensité ou la fréquence de l'exposition (2,5 ; IC_{95%} = 0,9 -6,5) et chez ceux modérément ou fortement exposés pendant plus de 2 h/semaine (2,7 ; IC_{95%} = 0,7 – 10,1). L'ensemble de ces résultats constitue un faisceau d'arguments en faveur d'effets rénaux induits par le TCE.

D'autres études professionnelles rapportent les risques relatifs associés aux décès dus à la néphrite et à la néphrose (Boice *et al.*, 2006b ; ATSDR, 2004a ; Boice *et al.*, 1999 cités dans) ou à tous les décès liés au système génito-urinaire (Ritz, 1999a; Costa *et al.*, 1989 ; Garabrant *et al.*, 1988 cités dans US EPA, 2011).

- Chez l'animal

Mensing *et al.* ont rapporté une néphrotoxicité du TCE chez le rat mâle Long-Evans après 6 mois d'exposition à 500 ppm (6 h/jours ; 5 jours/semaine) (Mensing *et al.*, 2002 cité dans NRC, 2006 ; ATSDR, 2014 et US EPA, 2011). Une augmentation de l'excrétion de protéines de haut poids moléculaire dont l'albumine (biomarqueur de lésions glomérulaires), de NAG et de protéines de faible poids moléculaire (biomarqueurs de lésions du tubule proximal) a été mise en évidence. L'histopathologie n'a pas révélé de dommages tubulaires, alors que le groupe traité a présenté plus d'inflammations interstitielles et de glomérulonéphrites. L'augmentation des différents paramètres peut être considérée comme un signe précurseur d'une atteinte rénale. À titre d'exemple, la NAG est une protéine lysosomale émise par les tubules. Ainsi, l'augmentation de l'excrétion urinaire de cette protéine est le signe d'une atteinte tubulaire rénale.

Une augmentation du poids des reins a été observée chez des rats, des souris et des gerbilles exposées de manière répétée ou continue (4-14 semaines) à des vapeurs de TCE entre 50 et 100 ppm (Boverhof *et al.*, 2013 ; Kimmerle et Eben, 1973a ; Kjellstrand *et al.*, 1981, 1983a, 1983b citées dans ATSDR, 2014). Cependant, la signification toxicologique de ces augmentations de poids est incertaine car aucune modification histologique n'était observée et aucun test de la fonction rénale n'a été réalisé. Une augmentation significative du poids des reins a été observée chez des rats et des lapins exposés à 3 000 ppm de TCE pendant 36 jours et pour les rats à 400 ppm pendant 243 jours, sans modification histologique (Adams *et al.*, 1951 cité par ATSDR, 2014). Aucune modification histologique signant un effet rénal induit par le TCE n'a été observée chez des rats, cobayes, lapins, chiens et singes écureuils exposés 6 semaines par inhalation à 700 ppm (Prendergast *et al.*, 1967 cité dans ATSDR, 2014).

Maltoni *et al.* (1988) ont exposé des rats Sprague-Dawley (n = 130) par inhalation à 0, 100, 300 et 600 ppm de TCE d'une pureté de 99,9% (sans époxyde), 7 heures par jour et 5 jours par semaine

pendant 104 semaines. Les observations ont été conduites jusqu'à la mort des animaux (vie entière) (Maltoni *et al.*, 1988). Une cytocaryomégalie (méganucléocytose) des cellules tubulaires a été observée à 300 et 600 ppm chez des rats mâles (résultats significatifs pour les deux concentrations, $p < 0,01$). Cet effet n'a pas été observé chez les témoins historiques et les rats exposés pendant 8 semaines. Les auteurs indiquent que cette atteinte rénale peut être considérée comme un effet précurseur du cancer du rein et a été observée chez les rats présentant un adénocarcinome rénal.

Les mêmes lésions tubulaires rénales que celles décrites par Maltoni *et al.* (1988) chez le rat mâle (cytomégalie et caryomégalie) ont également été observées, mais à des concentrations plus fortes, chez les rats femelles et chez des souris des deux sexes suite à une exposition par gavage. Dans une étude 13 semaines chez des rats F344 et des souris B6C3F1 exposées par gavage au TCE, le NTP (1990 cité dans US EPA, 2011) rapporte des cytomégalie et des caryomégalie des cellules épithéliales tubulaires rénales à des concentrations entre 1 000-6 000 mg/kg/j (tissus non examinés aux autres concentrations). Selon le NTP, ces effets sont minimes : ils n'ont été mis en évidence que lors de la réévaluation des tissus dans le cadre de l'étude 2 ans. Après une exposition d'1-2 ans au TCE par gavage (NTP, 1988 et 1990 ; NCI, 1976 cités dans US EPA, 2011), l'incidence et la sévérité de ces effets étaient augmentées chez les souris et les rats présentant des lésions au niveau des cellules épithéliales tubulaires du cortex rénal interne qui sont caractérisées par une cytomégalie, une caryomégalie et une néphrose. Ces lésions rénales sont présentes chez les souris et les rats des deux sexes après une exposition par gavage mais sont plus sévères chez les rats que chez les souris et chez les mâles par rapport aux femelles ce qui est cohérent avec les études de Maltoni *et al.*

Tableau 9: Synthèse des études subchroniques et chroniques chez l'animal par voie respiratoire mettant en évidence des effets au niveau du système rénal (US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)

Références	Espèce	Protocole	Concentrations	Effets observés	LOAEC /NOAEC
Adams <i>et al.</i> (1951)	Singe Rhésus Rats Wistar (n = 15/groupe) Cobayes Lapins	7 h/j ; 5j/sem. ; 6 mois	0, 200 et 400 ppm	↗ poids des reins, sans modification histologique, chez les lapins et les rats à 3 000 ppm pendant 36 j et chez les rats à 400 ppm après 243 j	400 / 200 ppm
Prendergast <i>et al.</i> (1967)	Rats Sprague-Dawley ou Long Evans (n = 15), cobayes Hartley (n = 15), lapins New-Zealand albinos (n = 3), chiens beagle (n =2) et singes écureuils (n = 3)	8 h/j ; 5 j/sem. ; 6 semaines	0 et 700 ppm	Pas de preuve histopathologique d'effets rénaux	- / 700 ppm
Prendergast <i>et al.</i> (1967)	Rats Sprague Dawley	24 h/j, 90 j	35 ppm	Pas de preuve histopathologique d'effets rénaux	- / 35 ppm
Kjellstrand <i>et al.</i> (1981)	Souris NMRI Rats Sprague-Dawley Gerbille (n = 4-12/groupes)	24 h/j ; 30 jours	0 et 150 ppm	↗ poids des reins	150 ppm / -
Kjellstrand <i>et al.</i> (1983a)	Souris NMRI (n = 10-20/groupe)	24 h/j ; 30 jours (exposition corps entier)	0, 37, 75,150 et 300 ppm	↗ poids des reins chez les ♂ dès 75 ppm (↑ de 39%) et chez les ♀ dès 150 ppm (↑ de 23%)	75 / 37 ppm (♂)
		24 h/j ; 120 jours	0 et 150 ppm	↗ poids des reins chez les ♂ et les ♀	150 ppm / -
		24h/j ; 30 jours + 120 jours de récupération	0 et 150 ppm	Pas de modification du poids des reins	-
		4 h/j ; 7 j/sem. ; 120 jours	0 et 900 ppm	↗ poids des reins chez les ♂	900 ppm / -
		4 h/j ; 7 j/sem. ; 120 jours + 30 jours de récupération	0 et 900 ppm	Pas de modification du poids des reins	-
		Entre 1 et 16h/j ; 7 j/sem. ; 30 jours	0, 225 (16 h/j), 450 (8 h/j), 900 (4 h/j), 1 800 (2 h/j) et 3 600 (1 h/j) ppm	↗ poids des reins chez les ♂ et chez les ♀ dès 225 ppm (non significatif chez les ♀ à 450 et 1 800 ppm)	-
Kjellstrand <i>et al.</i> (1983b)	Souris sauvage, C57Bi, DBA, B6CBA, A/sn, NZB et NMRI (n = 4-12/groupe)	24 h/j ; 30 jours	0 et 150 ppm	↗ poids des reins	150 ppm / -

Maltoni <i>et al.</i> (1988)	Rats Sprague-Dawley et souris M6C3F1 (n = 116-141/groupe)	7 h/j ; 5 j/sem. ; 104 semaines ; observation toute la durée de vie	0, 100, 300 et 600 ppm	Méganucléocytose des tubules rénaux chez les rats ♂ (47 % à 300 ppm ; 78 % à 300 ppm)	300 / 100 ppm
Green <i>et al.</i> (1998)	Rats F344 ♂ (n = 3-5/groupe)	6 h/j ; 1, 7, 15, 21, 28 jours	0, 250 et 500 ppm	↗ excrétion acide formique + modification pH urinaire et ↗ ammoniac Marqueurs urinaires et plasmatiques de néphrotoxicité inchangés (BUN, créatinine, protéines, ALP, NAG, GGT)	250 ppm / -
Mensing <i>et al.</i> (2002)	Rat Long-Evans ♂ (n = 5/groupe)	6 h/j ; 5 jours/sem, 6 mois	0 - 500 ppm	↗ non significative excrétion de protéines à haut poids moléculaire et albumine (biomarqueur de lésions glomérulaires) ↗ excrétion NAG et protéines de faible poids moléculaires (biomarqueurs de lésions du tubule proximal) pas de dommages tubulaires Modifications histologiques (infections interstitielles péri vasculaires et glomérulonéphrites)	
Woolhiser <i>et al.</i> (2006) Boverhof <i>et al.</i> (2013)	Rat Sprague-Dawley ♀ (n = 16/groupe)	6h/j, 5j/sem., 4 semaines	0, 100, 300 et 1 000 ppm	↗ 17% poids foie	1 000 / 300 ppm

- Mécanisme d'action

Les résultats des études chez l'Homme et l'animal sont concordants. Le TCE induit une toxicité sur les tubules rénaux. La néphrotoxicité de la substance est associée aux voies métaboliques.

La toxicité rénale du TCE serait différente selon le sexe chez le rat, la souris et l'Homme. Burg *et al.* ont mis en évidence que les femmes âgées de 55 à 64 ans présentaient un risque élevé de néphropathie (RR = 4,57, IC_{99%} = 2,10-9,93) que les hommes de la même tranche d'âge, une élévation globale du risque de maladies des voies urinaires étant observée dans les deux sexes (RR = 0,698 ; IC_{99%} = 0,69-1,4) (Burg *et al.*, 1995 cité dans US EPA, 2011). Chez les rongeurs, le poids des reins était augmenté davantage chez les souris mâles que chez les femelles (Kjellstrand *et al.*, 1983a et b cité dans US EPA, 2011), et les rats mâles présentaient une toxicité rénale induite par le TCE accrue comparativement aux femelles (Lash *et al.*, 1998 a et 2001b cité dans US EPA, 2011).

L'accumulation d' α 2u-globuline urinaire est spécifique aux rats mâles exposés à de nombreux xénobiotiques. Les substances chimiques entraînant des tumeurs rénales chez les rats mâles par accumulation d' α 2u-globuline urinaire ne sont pas considérées comme cancérigènes pour l'Homme. Les preuves expérimentales ne suggèrent toutefois pas que le TCE agit uniquement à travers ce mécanisme, bien que dans certaines études, une accumulation d' α 2u-globuline urinaire ait été observée (CIRC, 2014a). La plupart des données expérimentales suggèrent que la toxicité rénale (non cancéreuse) observée chez l'Homme et les rongeurs est médiée par la cytotoxicité suivie d'une néphrotoxicité chronique soutenue, sans accumulation d' α 2u-globuline urinaire dans le rein. En effet, la survenue des lésions tubulaires est observée chez le rat et la souris et dans les deux sexes.

L'activation du récepteur alpha (PPAR α) activé par le proliférateur du peroxyosome dans les tissus rénaux a été observée après l'exposition au TCE (Goldsworthy et Popp, 1987 ; Yoo *et al.*, 2015b, c cité dans Cichocki *et al.*, 2016). Toutefois, les données probantes à l'appui d'un mécanisme de toxicité dépendant du PPAR pour les lésions rénales associées au TCE sont considérées comme relativement faibles (US EPA, 2011 ; CIRC, 2014a).

Ainsi, la prolifération peroxyosomale et l'accumulation de α 2u-globuline urinaire induite par le TCE ne sont pas considérées pertinentes (US EPA, 2011 ; CIRC, 2014a).

Le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est lié aux métabolites issus de la voie de conjugaison au glutathion tels que la DCVC et ses métabolites. Selon les études *in vivo* et *in vitro* disponibles, le DCVC et ses métabolites induisent une toxicité rénale, similaire à celle induite par le TCE. Après exposition au TCE, le DCVC est formé en quantité suffisante pour induire des effets rénaux similaires à ceux observés avec le DCVC seul (US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014 ; Cristofori *et al.*, 2015). La voie de conjugaison au glutathion et ses enzymes étant présents chez l'Homme au niveau des reins, les métabolites actifs qui en résultent et qui seraient responsables des effets rénaux chez le rat, peuvent se former chez l'Homme.

Des différences de métabolisme au niveau de la voie du glutathion existent entre les espèces et les sexes. Chez les rongeurs, la conjugaison au glutathion par la glutathion-S-transferase (GST) est supérieure chez les rats et souris mâles par rapport aux femelles. Sur la base des

comparaisons de prédictions des modèles PBPK chez la souris, le rat et l'Homme, l'Homme aurait une plus forte capacité à conjuguer le TCE au GSH (US EPA, 2011, ATSDR, 2014).

Certains auteurs ont proposé un mécanisme d'action impliquant l'acide formique (Green *et al.*, 1998, 2003 ; Dow et Green, 2000 cité dans NRC, 2006 et US EPA, 2011). Une exposition au TCOH ou au TCA conduit à la formation et à l'excrétion urinaire d'acide formique susceptible d'induire une toxicité rénale (à travers une déplétion en vitamine B12, puis en folate induisant une accumulation d'acide formique). En 2006, le NRC estimait, qu'au vu des différences entre les effets rénaux du TCE et de l'acide formique, la formation d'acide formique comme mécanisme d'action pour le TCE paraissait peu probable. Cependant, en 2011, l'US EPA a jugé qu'il n'était pas possible d'exclure un rôle de l'acide formique dû à la formation de TCOH ou de TCA à partir de TCE. En effet, le TCOH et le TCA sont formés en grande quantité à partir du TCE, l'acide formique est formé à partir de ces 3 substances et le TCOH entraîne une toxicité au niveau des tubules rénaux. Cependant, le TCOH n'entraîne pas les mêmes pathologies rénales que le TCE ou le DCVC. Il a également été montré que le TCA induit une prolifération peroxysomale au niveau rénal, sans être associé à des cancers du rein. Ainsi, bien que le TCOH et le TCA puissent éventuellement contribuer à la néphrotoxicité induite par le TCE, leur contribution est vraisemblablement faible comparée à celle du DCVC.

Khan *et al.* (2009) ont indiqué que le TCE altère le système antioxydant chez le rat. Les résultats soutiennent l'hypothèse qu'il induit un stress oxydant dans le rein et d'autres tissus (Khan *et al.*, 2009).

En conclusion, il apparaît que le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est lié aux métabolites issus de la voie de conjugaison au glutathion (DCVC et ses métabolites), avec des différences entre espèces : l'Homme aurait une plus grande capacité à générer de tels métabolites. Malgré tout, il n'est pas possible d'exclure un rôle de l'acide formique, dû à la formation de TCOH ou de TCA à partir de TCE, même si leur contribution reste vraisemblablement faible comparée à celle du DCVC.

3.3.3 Effets hépatiques

- Chez l'Homme

Le rapport du NRC (2006) présente les principales conclusions des études chez l'Homme relatives à l'hépatotoxicité. Les résultats des études suggèrent que l'exposition professionnelle peut conduire à des pathologies hépatiques telles que la cytolyse, la stéatose et la cirrhose. La substance est susceptible d'induire des ictères jusqu'à des défaillances hépatiques sévères. Une étude de cas a rapporté l'apparition de cirrhose chronique et d'hypertension portale chez des patients exposés professionnellement de manière répétée (Thiele *et al.*, 1982 cité dans NRC, 2006). L'étude la plus récente concernant l'induction d'effets hépatiques suite à une exposition professionnelle au TCE a été réalisée en Thaïlande. Deux femmes ont ainsi développé des lésions cutanées, une fièvre et une hépatite (dont l'une fatale). Elles nettoyaient des pièces de métal en les plongeant dans des bacs contenant du TCE (Pantucharoensri *et al.*, 2004 cité dans NRC, 2006). Étant données la présence possible d'impuretés hépatotoxiques (et celle avérée d'adjuvants) dans les préparations commerciales, ces observations sont d'interprétation délicate.

Le NRC (2006) souligne que ces études de cas sont en accord avec les études animales indiquant que le TCE est susceptible d'induire une hépatite associée à une importante réponse auto-immune. Les facteurs génétiques et environnementaux qui influencent l'activité enzymatique des xénobiotiques peuvent favoriser la formation des métabolites capables de déclencher une réponse immune contre le foie. Le NRC développe la contribution des métabolites tels que l'hydrate de chloral ou la DCVC dans le mécanisme d'hépatotoxicité.

L'exposition au TCE pourrait augmenter les concentrations de cholestérol HDL et d'acides biliaires. Des expositions professionnelles chroniques à de faibles concentrations de TCE semblent altérer le métabolisme du cholestérol en l'absence d'effets hépatocellulaires (pas d'augmentation des transaminases dans le sérum hépatique) (Nagaya *et al.*, 1993 cité dans NRC, 2006). D'autres études ont rapporté une augmentation significative des concentrations d'acides biliaires dans des groupes de travailleurs exposés au TCE (Driscoll *et al.*, 1992 ; Neghab *et al.*, 1997 cités dans NRC, 2006). Aucune association n'a été observée entre l'augmentation des acides biliaires plasmatiques et les marqueurs conventionnels d'une atteinte hépatique (ALAT, ASAT, protéines totales, bilirubine, γ -GT). Ainsi, ces modifications des concentrations d'acides biliaires pourraient être une indication précoce de modifications de la fonction hépatique indépendamment d'atteintes hépatocellulaires (NRC, 2006).

Xu *et al.* (2009) ont également observé une augmentation significative des marqueurs hépatiques chez les travailleurs : 90% pour l'ALAT (19/21), 86% pour l'ASAT (18/21) et 76% pour la bilirubine totale (16/21). Rasmussen *et al.* (1993b) ont montré une augmentation des niveaux de γ -GT au-delà des valeurs de référence pour la plus forte exposition cumulée. Étant donnée la présence possible d'impuretés hépatotoxiques (et celle avérée d'adjuvants) dans les préparations commerciales, ces observations sont d'interprétation délicate.

Des études de cas ont rapporté des effets sur le foie tels qu'un ictère, une hépatomégalie, une hépatosplénomégalie, une hépatite ou une insuffisance hépatique chez des patients avec une exposition professionnelle ou non professionnelle par voie respiratoire au TCE (Anagnostopoulos *et al.* 2004 ; Caprioli *et al.* 2001 ; Chae *et al.* 1999, 2003 ; Chittasobhaktra *et al.* 1997 ; Goon *et al.* 2001 ; Ha *et al.* 2009 ; Huang *et al.* 2006 ; Jung *et al.* 2012 ; Kamijima *et al.* 2007 ; Nakayama *et al.* 1988 ; Pantucharoensri *et al.* 2004 ; Schattner et Malnick, 1990 Thiele *et al.* 1982 ; Xu *et al.* 2009 cités dans ATSDR, 2014). Cependant, l'ensemble des études souffrent de limites méthodologiques importantes, notamment dans la caractérisation des expositions et celle qualitative des TCE employés (impuretés et adjuvants). En outre, les individus exposés au TCE l'étaient également à d'autres solvants.

Bronley-DeLancey *et al.* rappellent que l'hydrate de chloral, principal métabolite du TCE dans le foie *via* l'action du CYP 2E1, comporte 2 voies métaboliques possibles : la métabolisation en TCA, supposé hépatocancérogène, par l'action de l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH) ou en trichloroéthanol, supposé non cancérogène, par l'action de l'alcool déshydrogénase (ADH) (Bronley-DeLancey 2006 cité dans US EPA, 2011). Prenant en compte le polymorphisme des 2 enzymes concernées, les auteurs ont réalisé une première étude visant à étudier les cinétiques de transformation de l'hydrate de chloral pour différents échantillons humains d'hépatocytes. Les résultats obtenus, bien que limités par le faible nombre d'échantillons traités, montrent que malgré une large variation interindividuelle des cinétiques enzymatiques, le ratio entre les 2 voies compétitives de métabolisme de l'hydrate de chloral s'avère relativement constant.

Le Tableau 10 résume l'ensemble des effets hépatiques recensés dans les études humaines suite à une exposition au TCE.

Tableau 10 : Synthèse des études humaines induisant un effet hépatique, lors d'expositions subchroniques et chroniques (inhalation) au TCE (NRC, 2006 ; US EPA, 2011)

Sujets	Concentrations	Durée d'exposition	Effets sanitaires
Phoon <i>et al.</i> , 1984 5 cas (hommes et femmes) Inhalation de vapeurs	TCE, 10-165 ppm (50-912 mg.m ⁻³)	3-5 semaines	Syndrome de Stevens Johnson, ictère, hépatomégalie et encéphalopathie hépatique. Autres solvants suspectés
Driscoll <i>et al.</i> , 1992 Travailleurs (21 hommes et 1 femme)	Exposition < 5 ppm (27 mg.m ⁻³) ; pics d'exposition pour 2 personnes à 250 ppm (1367,5 mg.m ⁻³)	Durée d'emploi moyenne : 7 années	Augmentation significative des acides biliaires sériques dans le groupe exposé (ajustement âge et consommation d'alcool). Pas d'anomalie des fonctions hépatiques Pas de relation entre acide biliaire et cholestérol
Nagaya <i>et al.</i> , 1993 Étude croisée (148 travailleurs) et suivi pendant 2 ans (13 travailleurs)	Exposition faible, moyenne et forte au TCE sur la base de métabolites dans les urines	Durée d'emploi : 0,1 à 36,6 années avec une moyenne de 7 années	Augmentation cholestérol HDL sans augmentation des transaminases hépatiques sériques. Influence de l'alcool
Rasmussen <i>et al.</i> , 1993b 95 travailleurs (70 exposés au TCE, 25 au fluorocarbure CFC113)	Pas d'info	4 groupes (nombre d'années cumulées) : I : 0,6 II : 1,9 III : 4,4 IV : 14,4	Augmentation de la concentration sérique de γ -GT avec l'augmentation de l'exposition cumulée
Neghab <i>et al.</i> , 1997 Travailleurs (n = 10, 5 exposés et 5 non exposés)	TCE, 8,9 +/- 3,1 ppm (49 +/- 17 mg.m ⁻³)	Durée d'emploi moyenne : 3,4 années	Élévation des acides biliaires Fonctions hépatobiliaires normales
Pantucharoensri <i>et al.</i> , 2004 2 cas (femmes) Inhalation de vapeurs	TCE, 15-45 ppm (85-246 mg.m ⁻³)	4-5 semaines	Syndrome de Stevens Johnson, éruptions cutanées généralisées, hépatite sans ictère (cas 1) et hépatite fulminante (cas 2)
Kamijima <i>et al.</i> , 2007 Rapports de cas sur 8 pays de personnes avec des affections cutanées (érythème polymorphe, syndrome de Stevens-Johnson, nécrolyse d'épiderme toxique, syndrome d'hypersensibilité)	De < 50mg.m ⁻³ à > 4000 mg.m ⁻³	Symptômes développés dans les 2-5 semaines après l'exposition initiale, jusqu'à 3 mois	Hépatite dans 46-94% des cas (92-94% des cas présentant un érythème polymorphe, syndrome de Stevens-Johnson, nécrolyse d'épiderme toxique et 46-94% chez les ceux présentant un syndrome d'hypersensibilité). Les autres effets hépatiques incluent hépatomégalie et concentrations d'enzymes hépatiques élevées et dans de rares cas, insuffisance hépatique aiguë.
Xu <i>et al.</i> , 2009 21 travailleurs présentant une dermatite de contact	18-685 mg.m ⁻³	5-90 jours	Forte prévalence de concentrations sériques de marqueurs hépatiques au-delà des valeurs normales : ALAT : 19 sur 21, ASAT : 18 sur 21, et T-bilirubine : 16 sur 21

- Chez l'animal

Les rongeurs exposés à de fortes concentrations de TCE ou à certains de ses métabolites développent des nécroses hépatocellulaires. Différentes études ont localisé les atteintes au niveau de la zone moyenne, périportale ou des hépatocytes centrolobulaires (Buben et O'Flaherty, 1985 ; Soni *et al.*, 1998 ; 1999 ; Lee *et al.*, 2000 cités NRC, 2006). La variabilité dans la localisation des atteintes peut s'expliquer par les différences des voies d'administration, de doses, de souches ou d'espèces de rongeurs utilisés dans les études. La plupart des études ont été réalisées par gavage, par ingestion ou par voie intrapéritonéale ou intraveineuse. Peu d'études sont disponibles par inhalation.

Kumar *et al.* ont évalué l'hépatotoxicité induite par le TCE chez le rat exposé à 376 ppm pendant 8, 12 et 24 semaines (Kumar *et al.*, 2001 cités dans NRC, 2006). Une hépatomégalie avec des cellules nécrotiques et une infiltration lipidique ont été plus souvent identifiées chez les rats exposés pendant 12 et 24 semaines. Les auteurs ont alors détecté une élévation des marqueurs d'altération lysosomale. Ils n'ont enregistré aucune mortalité dans les groupes traités.

Seule une légère (mais statistiquement significative) augmentation du poids relatif du foie a été observée chez des rats femelles exposées par inhalation de façon intermittente à 1000 ppm de TCE pendant 4 semaines (Boverhof *et al.*, 2013) ou chez des rates gestantes exposées 6 heures/jours de GD6 à GD 20 à 600 ppm (Carney *et al.*, 2006). Dans ces deux études, aucun examen histologique du foie n'a été réalisé.

Les indications histologiques d'atteintes rénales et hépatiques apparaissent chez des rats Fischer exposés durant 12 semaines en continu au TCE en concentration variable, en raison de problèmes expérimentaux (400 à 1 500 ppm) (Arai, 1988 cité dans CE, 2004). Dans ces conditions, les auteurs ont mis en évidence une multiplicité d'effets, notamment hépatiques (augmentation du poids du foie, hypertrophie des cellules centrolobulaires, nécroses de cellules hépatiques, diminution de la concentration plasmatique de cholestérol et diminution de celle d'albumine) et rénaux (augmentation du poids des reins et augmentation de la glucosurie) à une concentration moyenne de 800 ppm.

Dans une série de travaux, Kjellstrand *et al.* ont étudié les propriétés toxicologiques du TCE sur diverses espèces de rongeurs (rat, souris, gerbille) et différentes souches (Kjellstrand *et al.*, 1981, 1983a et 1983b cités dans CE, 2004). Dans leur première publication, les auteurs décrivent leurs observations suite à l'exposition de rats Sprague-Dawley, de souris NMRI et de gerbilles à des concentrations de TCE de 0 et 150 ppm durant 30 jours. Ils constatent une augmentation significative du poids du foie en fin d'exposition, notamment chez les souris (augmentations de 10 et 20% respectivement pour le rat et la gerbille contre 60-80% chez la souris) mais aucune modification pour les reins et la rate en termes de poids pour les 3 espèces. Au cours des travaux suivants, la réitération de l'expérience sur différentes souches de souris (C57BL, DBA, B6CBA, A/sn, NZB et NMRI) a montré que les fortes modifications précédemment constatées pour la souris ne sont pas dues à une sensibilité particulière de la souche NMRI mais à l'espèce. L'exposition de groupes de 20 souris NMRI en continu durant 30 jours à différentes concentrations de TCE (entre 37 et 300 ppm) a ensuite mis en évidence une augmentation dose-dépendante du poids du foie et de l'activité de la butyrylcholinestérase plasmatique. L'examen histologique révèle que cet effet, néfaste ou simplement adaptatif, s'accompagne pour les 2 sexes d'une hypertrophie et d'une vacuolisation des hépatocytes. Les souris mâles étaient plus sensibles aux effets hépatiques que les femelles (mâles : NOAEC 37 ppm ; femelles NOAEC = 150 ppm pour 30 jours d'exposition).

Woolhiser *et al.* (2006), suite à une exposition par inhalation 4 semaines (6 h/j, 5 j/semaine), ont rapporté une augmentation du poids relatif du foie (13%) chez les rates Sprague Dawley à 1 000 ppm. Il n'a pas été réalisé dans cette étude d'analyse histopathologique.

Ramdhan *et al.* (2010) ont exposé des souris au TCE pendant 7 jours à 1 000 ou 2 000 ppm. Ils ont observé une augmentation du poids absolu (38 et 49%) et relatif (38 et 43%) du foie ainsi qu'une augmentation statistiquement significative des transaminases (ALAT et ASAT) aux deux concentrations. Enfin, les auteurs rapportent des nécroses hépatocytaires aux deux concentrations de traitement, et une inflammation et une prolifération des hépatocytes à 2000 ppm.

Kaneko *et al.* (2000) ont rapporté des nécroses hépatocytaires sporadiques chez des souris mâles exposées jusqu'à 2 000 ppm pendant 8 semaines (4h/j ; 6 j/semaine). Une inflammation dose dépendante a également été observée dans le foie. Les auteurs ont indiqué que les effets à 500 ppm étaient minimaux.

- Mécanisme d'action

Le mécanisme d'altération hépatique semble associé au métabolisme du TCE par le CYP 2E1 et aux proliférations peroxysomales. Ramdhan *et al.* ont ainsi montré le rôle de ce cytochrome par l'exposition de groupes de souris le possédant ou pas (CYP2E1+/+ et CYP2E1-/-) à des vapeurs de TCE (0, 1 000 et 2 000 ppm, 8h/j, 7 jours) (Ramdhan *et al.*, 2008 cité dans US EPA, 2011). Pour la plus forte concentration, l'augmentation des activités des marqueurs plasmatiques d'hépatotoxicité ASAT et ALAT indiquent une inflammation du foie confirmée par un examen histologique uniquement pour les souris CYP2E1+/+. Une augmentation significative de l'activité des récepteurs α au facteur activé de prolifération des peroxysomes (PPAR α) est simultanément constatée. Les auteurs concluent au double rôle du CYP450 : l'induction de l'hépatotoxicité, associée aux produits intermédiaires de métabolisation du TCE en hydrate de chloral, et une activité inflammatoire, attribuée au métabolite TCA. Cette dernière affirmation est cependant contestée, notamment par Nakajima *et al.* (Nakajima *et al.*, 2000 cité dans US EPA, 2011). Ces auteurs ont montré que le gavage de TCE entraînait spécifiquement chez les souris mâles un accroissement du stress oxydant qui se manifestait par une prolifération des peroxysomes, associé à la présence des PPAR α . Suite à une exposition subaiguë et subchronique par voie orale de souris, Yoo *et al.* (2015) ont montré que l'expression de Acox1 et CYP 4A10 (gènes marqueurs de la prolifération de peroxysomes) était fortement corrélée avec les niveaux sériques de TCA et DCA (induction dose dépendante de leur expression puis diminution au cours de l'étude). Cependant, ni le TCA ni le DCA dans le foie n'étaient corrélés avec la prolifération hépatocellulaire dans l'étude subchronique, ce qui suggère que d'autres métabolites ou voies sont impliquées dans l'hépatotoxicité du TCE. Ces études, réalisées par voie orale, sont cependant à prendre avec précaution dans le cadre de travaux par voie respiratoire.

En résumé, il apparaît probable que chez les petits rongeurs, le métabolisme oxydatif du TCE soit nécessaire pour produire les effets hépatotoxiques. Des expositions au TCE, au TCA, et au DCA ont toutes été associées à l'induction de proliférateurs de peroxysomes, mais ces composés sont tous de faibles agonistes de PPAR α (US EPA, 2011).

Yang *et al.* (2012 cité dans ATSDR, 2014) ont rapporté une diminution de la viabilité cellulaire, une augmentation de l'apoptose, une augmentation des niveaux d'ARNm et de la protéine de l'inhibiteur 2 de la protéine phosphatase 2A (I2PP2A), et une diminution de l'activité de PP2A. Une inactivation de l'I2PP2A supprime partiellement les effets sur la viabilité cellulaire, l'apoptose et

l'activité de PP2A. Ces résultats indiquent donc que la I2PP2A joue probablement un rôle crucial dans l'hépatotoxicité du TCE.

3.3.4 Effets immunologiques

Le TCE est capable d'exercer des effets sur le système immunitaire qui vont se traduire non seulement sur les cellules/tissus de l'immunité mais aussi sur d'autres tissus/organes et être donc à l'origine d'effets systémiques. On peut distinguer 2 types d'effets immunotoxiques liés à l'exposition au TCE : l'immunosuppression et l'auto-immunité.

- Immunosuppression

Les effets immunosuppresseurs du TCE ont été observés chez l'animal et l'Homme. Ils ont été mis en évidence par des impacts divers et variés du TCE sur le système immunitaire.

o Chez l'Homme

Lehman *et al.* (2001) ont mesuré les niveaux d'IgE et la réponse à des antigènes spécifiques des composés organiques volatils (COV) présents dans l'environnement intérieur chez 121 enfants de 36 mois présentant des risques de développer une allergie. L'exposition au TCE (médiane = 0,42 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) n'était pas associée à des modifications des pourcentages de lymphocytes T produisant de l'IL-4, de l'INF- γ ou d'IgE (US EPA, 2011). Dans une étude sur l'exposition prénatale aux COV, Lehmann *et al.* (2002) ont mis en évidence une association entre l'exposition au TCE et l'augmentation des concentrations sériques d'INF- γ et la diminution des niveaux sériques d'IL-4 chez les nouveau-nés. Les niveaux médians de TCE mesurés dans la chambre des enfants (lors des 4 premières semaines de vie) étaient 0,6 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, soit 0,11 ppb (US EPA, 2011).

Lavicoli *et al.* (2005) ont rapporté une altération des concentrations sériques de cytokines (diminution des niveaux d'IL-4, augmentation des niveaux d'IL-2 et d'INF- γ) chez des travailleurs exposés à une concentration moyenne de TCE de 6,3 ppm (35 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) pendant au minimum 3 ans (cité dans US EPA, 2011 et ATSDR, 2014).

Des travailleurs exposés au TCE (n = 80 avec une exposition médiane : 12 ppm ; 96 témoins) ont montré une diminution significative du nombre total de lymphocytes, de lymphocytes T CD4+, CD8+, des lymphocytes B, et des cellules NK. Les diminutions étaient plus importantes chez les travailleurs les plus exposés (≥ 12 ppm) (Lan *et al.*, 2010 ; Hosgood *et al.*, 2012 cité dans US EPA, 2011 et ATSDR, 2014).

Bassig *et al.* (2013) ont rapporté une diminution significative (70%) de la concentration sérique d'IL-10 chez les travailleurs exposés. Cette diminution était toujours supérieure à 60% chez les travailleurs exposés à 12 ppm ou moins de TCE (ATSDR, 2014). Dans une étude de cohorte sur 80 travailleurs exposés au TCE (Zhang *et al.*, 2013 cité dans ATSDR, 2014), une diminution des concentrations sériques d'IgM et d'IgG a été rapportée (-38 et 17,5% respectivement). Aucun effet sur les niveaux d'IgE n'a été observé.

Ainsi, chez l'Homme, on a observé une diminution du nombre des lymphocytes T CD4 et CD8, des lymphocytes B, des cellules NK, une diminution des niveaux sériques d'IgM et d'IgG, de la cytokine IL-4 et IL-10 et une augmentation des niveaux sériques des cytokines IL-2 et INF- γ (Lehmann *et al.*, 2001 et 2002 ; Lavicoli *et al.*, 2005 ; Lan *et al.*, 2010 ; Hosgood *et al.*, 2012 ; Bassig *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2013 cité dans ATSDR, 2014 et US EPA, 2011). Les

conséquences sur la susceptibilité aux infections virales et bactériennes ou sur la survenue de tumeurs d'origine virale n'apparaissent pas claires.

- **Chez l'animal**

Dans une étude conforme aux lignes directrices OPPTS, Woolhiser *et al.* (2006) ont montré une diminution de 64% de la formation de plaques d'hémolyse à 1 000 ppm chez des rates Sprague-Dawley (n = 16) exposées 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 4 semaines (NOAEC = 300 ppm) (US EPA, 2011).

Dans l'étude de Boverhof *et al.* (2013), une diminution de 64% de la réponse des IgM spléniques anti-SRBC a été observée chez des rates exposées 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 4 semaines à 1 000 ppm (NOAEC = 300 ppm) (ATSDR, 2014).

Kaneko *et al.* (2000) ont rapporté une diminution dose dépendante des niveaux d'IgG, une inflammation du foie, une splénomégalie, et une hyperplasie des follicules lymphatiques à partir de 500 ppm, chez des souris mâles d'une souche sujette aux maladies auto-immunes exposées 8 semaines (ATSDR, 2014).

Des souris mâles et femelles, exposés à 300 ppm de TCE pendant 8 semaines, présentaient une diminution significative du poids de la rate (respectivement 41 et 24%). La NOAEC était de 150 ppm (Kjellstrand *et al.*, 1983a cité dans ATSDR, 2014).

- **Auto-immunité**

Les effets d'auto-immunité sont aussi observés chez l'animal et l'Homme. L'auto-immunité consiste en une réponse immunitaire dirigée contre les composants normaux de l'organisme suite à une rupture de la tolérance au soi ou à des modifications d'auto-antigènes par fixation covalente d'un métabolite réactif. Les conséquences cliniques peuvent être soit des réactions généralisées comme dans la sclérodémie, le lupus érythémateux disséminé, ou la polyarthrite rhumatoïde, maladies auto-immunes chroniques, soit des réactions spécifiques d'organes comme dans certaines hépatites.

Une association entre exposition aux solvants organiques, dont le TCE, et survenue de sclérodémie a été retrouvée dans un certain nombre d'études. La sclérodémie est une pathologie auto-immune caractérisée avant tout par le durcissement de la peau. Il existe plusieurs formes de sclérodémie : soit la maladie ne touche que certains endroits de la peau, soit elle atteint également les organes internes qui subissent un durcissement similaire à celui de la peau. Le mécanisme à l'origine de la sclérodémie bien qu'inconnu est probablement multifactoriel impliquant à la fois des facteurs génétiques et environnementaux.

- **Chez l'Homme**

Des cas de sclérodémie ont été rapportés chez des personnes exposées au TCE avec production d'auto-anticorps antinucléaires. Ces personnes présentaient une atteinte cutanée sévère et généralisée accompagnée d'altérations systémiques incluant des hépatites (Nietert *et al.*, 1998 ; Diot *et al.*, 2002 ; Garabrant *et al.*, 2003 cités dans US EPA, 2011 et ATSDR, 2014). Une méta-analyse conduite par l'US EPA sur trois études analysant la sclérodémie (Garabrant *et al.*, 2003 ; Diot *et al.*, 2002 ; Nietert *et al.*, 1998) a conclu à un odds ratio statistiquement significatif chez les hommes (OR : 2,5, IC_{95%} = 1,1 - 5,4) et non significatif chez les femmes (OR : 1,2, IC_{95%} = 0,58 - 2,6) (Cooper *et al.*, 2009 cité dans ATSDR, 2014). Les résultats de l'étude de Marie *et al.*

(2014) réalisée chez 10 patients atteints de sclérodémie exposés au TCE (17 témoins) vont dans le même sens (chez les hommes : OR = 2,77 ; IC_{95%} = 0,8-9,35. Chez les femmes : OR = 1,36 ; IC_{95%} = 0,3-5,04) (Marie *et al.*, 2014).

Les effets observés ici apparaissent bien adverses. Cependant, les études épidémiologiques chez l'Homme sont souvent réalisées dans le cadre de multi-expositions d'origine professionnelle. Des rapports de cas ont également mis en évidence des sclérodémies (Flindt-Hansen et Isager, 1987 ; Brasington et Thorpe-Swenson, 1991 ; Yanez Diaz *et al.*, 1992 ; Czirjak *et al.*, 1993 ; Bond, 1996 ; Pralong *et al.*, 2009).

Aucune étude de cohorte sur l'incidence des maladies auto-immunes n'a été réalisée chez des travailleurs exposés au TCE. La majorité des études épidémiologiques faisant le lien entre l'exposition aux solvants et le développement de maladies auto-immunes s'appuient sur des mesures en milieu professionnel de solvants, organiques ou chlorés. Un risque deux ou trois fois plus élevé de sclérodémie (Maitre *et al.*, 2004 ; Bovenzi *et al.*, 2004 ; Garabrant *et al.*, 2003 ; Aryal *et al.*, 2001 cités dans US EPA, 2011), de polyarthrite rhumatoïde (Sverdrup *et al.*, 2005 ; Olsson *et al.*, 2000 et 2004 ; Lundberg *et al.*, 1994 cités dans US EPA, 2011), de connectivité indifférenciée (Lacey *et al.*, 1999 cité dans US EPA, 2011), et de vascularite liée aux anticorps antineutrophiles-cytoplasmiques (Beaudreuil *et al.*, 2005 ; Lane *et al.*, 2003 cités dans US EPA, 2011) a été observée. Il existe peu de preuves d'une association entre l'exposition aux solvants et le lupus érythémateux systémique dans deux études cas-témoins (Finckh *et al.*, 2006 ; Cooper *et al.*, 2004 cités dans US EPA, 2011).

○ **Chez l'animal**

Les études réalisées chez l'animal ont été conduites dans des modèles de rongeurs susceptibles de développer des maladies auto-immunes et les end-points biologiques mesurés dans ces études restent souvent ponctuels pour les relations effets-dose observées (Kaneko *et al.*, 2000). Dans une étude chez des souris mâles d'une souche sujette aux maladies auto-immunes exposées 8 semaines (4 h/j, 6 j/semaines), Kaneko *et al.* (2000) ont rapporté une diminution dose-réponse des niveaux d'IgG, une inflammation du foie, une splénomégalie, et une hyperplasie des follicules lymphatiques à partir de 500 ppm.

- **Mécanisme d'action**

Au niveau mécanistique, les effets immunotoxiques du TCE semblent être souvent dus aux métabolites réactifs du TCE, particulièrement le trichloréthanol, comme rapporté dans la dermatite (Jia *et al.*, 2012). L'implication du stress oxydant a aussi été mise en évidence dans les effets immunotoxiques du TCE, par exemple dans les atteintes cutanées retrouvées dans la sclérodémie (Wang *et al.*, 2007). Dans la sclérodémie, ces effets semblent dépendre plus de l'intensité de l'exposition (Nietert *et al.*, 1998) que de sa durée (Garabrant *et al.*, 2003 cité dans ATSDR, 2014). Plus récemment, une équipe s'est intéressée à la capacité du TCE à produire des altérations épigénétiques telles que des modifications des méthylations de l'ADN (Gilbert *et al.*, 2016 et 2017). Enfin, un certain nombre de polymorphismes génétiques ont été associés à des risques accrus d'immunotoxicité après exposition au TCE (Dai *et al.*, 2009).

3.3.5 Autres effets

- **Chez l'Homme**

Des effets sur le **système** cardiovasculaire d'une exposition au TCE ont été observés dans quelques études. Dans une cohorte de 14 457 travailleurs employés pendant au minimum 1 an entre 1952 et 1956, un excès significatif de mortalité par cardiopathie ischémique a été rapporté dans le groupe de 6 153 travailleurs exposés au TCE en comparaison avec un groupe non exposé (exposition évaluée selon une matrice emploi-exposition cumulée) (Blair *et al.*, 1998). Les électrocardiogrammes pratiqués chez des travailleurs exposés, présentant des symptômes de neuropathies, aboutissent à des résultats équivoques puisque El Ghawabi *et al.* n'ont observé aucune différence significative entre sujets exposés entre 41 et 163 ppm et non-exposés tandis qu'Anderson rapporte dans une étude antérieure des signes révélateurs d'altération du mécanisme autonome cardiaque (absence de groupe témoin, exposition : mesure TCE atmosphérique et acide trichloroacétique urinaire) (Anderson, 1957 ; El Ghawabi *et al.*, 1973 cités dans CE, 2004 ; ATSDR, 2014).

Peu d'études concernent la **toxicité pulmonaire** suite à une exposition au TCE. Quelques rapports de cas décrivent des cas de pneumonie d'hypersensibilité, de pneumopathie aiguë avec œdème pulmonaire et de dyspnée chronique (Kim *et al.*, 2014 ; Morimatsu *et al.*, 2006 ; Sjögren *et al.*, 1991 cité dans Dumas *et al.*, 2018).

Quelques études de cohorte ont rapporté une association entre l'exposition au TCE et des décès par des pathologies respiratoires non cancéreuses. Deux études américaines chez des travailleurs employés dans la fabrication et la maintenance d'avion (Morgan *et al.*, 1998 cité dans US EPA, 2011 ; Radican *et al.*, 2008) exposés au TCE montrent un excès significatif de décès par maladies respiratoires (bronchite, emphysème et/ou asthme), sans mettre en évidence de relation dose-réponse (Dumas *et al.*, 2018). Dans une étude de cohorte de mortalité sur 14 457 travailleurs employés dans la maintenance des avions au moins 1 an entre 1952 et 1956, un excès significatif de décès par asthme (SMR = 160 ; IC_{95%} = 102-251) a été observé dans un groupe de 6 153 travailleurs exposés au TCE comparé à un groupe non exposé aux substances chimiques (Blair *et al.*, 1998). A contrario, deux autres études n'ont pas mis en évidence d'excès de décès par pathologies respiratoires non cancéreuses (Boice *et al.*, 1999 et 2006 cités dans Dumas *et al.*, 2018). Deux études portant sur des travailleurs d'un manufacturier d'armes exposés à de multiples solvants, dont le TCE, indiquent des symptômes évocateurs d'asthme et une altération de la fonction respiratoire. Les résultats restent difficilement interprétables en raison d'une co-exposition multiple (Cakmak *et al.*, 2004 ; Saygun *et al.*, 2007 cité dans NRC, 2006). Dans une étude thaïlandaise réalisée chez 244 travailleurs d'une usine de fabrication d'horloges, une augmentation significative de la prévalence des symptômes cutanés et respiratoires (toux, fréquentes expectorations, sinusite, bronchite, irritation de la gorge, respiration sifflante ou essoufflement) a été rapportée chez les travailleurs exposés mais une plus faible prévalence d'allergie (pas d'ajustement sur le statut tabagique) (Singthong *et al.*, 2015 cité dans Dumas *et al.*, 2018).

Une étude cas-témoin a été conduite chez des patients atteints de maladie veineuse pulmonaire occlusive (n = 33) et d'hypertension artérielle pulmonaire (témoins, n = 65). L'exposition professionnelle a été évaluée par questionnaire avec une évaluation à l'aveugle par des experts et à l'aide d'une matrice emploi-exposition. Montani *et al.* ont mis en évidence une association significative entre la maladie veineuse pulmonaire occlusive et l'exposition professionnelle aux solvants organiques (OR = 12,8 ; IC_{95%} = 2,7-60,8), le TCE étant le principal solvant en cause (OR = 8,2 ; IC_{95%} = 1,4-49,4) (Montani *et al.*, 2015).

Les données sur les **effets hématologiques** sont limitées chez l'Homme. Aucun effet sur l'hémoglobine ou le nombre de globules rouges n'a été observé chez des travailleurs exposés à 30-172 ppm de TCE sur une période de <1 an à plus de 5 ans (El Ghawabi *et al.*, 1973 cité dans ATSDR, 2014). En revanche, une diminution du nombre de globules rouges et de la concentration de l'hémoglobine a été mise en évidence dans une étude chez l'Homme (Emara *et al.*, 2010 cité dans Cichocki *et al.*, 2016).

- Chez l'animal

Aucune modification histopathologique cardiaque n'a été observée chez des rats exposés à 600 ppm 7 h/jour, 5 j/semaine pendant 104 semaines (Maltoni *et al.*, 1988)

Kumar *et al.* (2002b) rapportent des bronchiolites et des alvéolites chez des rats exposés 4 h/j, 5 j/semaines pendant 28 ou 90 jours à 376 ppm de TCE. Un œdème marqué, la présence de cellules mononucléées et de modifications emphysémateuses ont été notés après 90 jours. Les rats présentaient également une irritation nasale pendant l'exposition (Kumar *et al.*, 2002b cité dans ATSDR, 2014).

Aucun effet **hématologique** n'a été noté chez des singes écureuils, des rats, des cobayes, des chiens et des lapins exposés à 700 ppm de TCE 8 h/jours, 5 jours/semaines pendant 6 semaines ou 35 ppm de manière continue pendant 6 semaines (Prendergast *et al.*, 1967 cité dans ATSDR, 2014). Aucun effet hématologique n'a été mis en évidence chez des rats exposés en subchronique à 1 000 ppm (Boverhof *et al.*, 2013 cité dans ATSDR, 2014), à 400 ppm (Adams *et al.*, 1951 cité dans ATSDR, 2014) ou 55 ppm (Kimmerle et Eben, 1973a cité dans ATSDR, 2014).

3.4 Toxicité sur la reproduction et le développement et effets endocriniens

3.4.1 Effets sur la fertilité

○ Chez l'Homme

Les études en milieu professionnel ont évalué la qualité du sperme, la fertilité masculine et le comportement sexuel et ont observé une altération de la morphologie des spermatozoïdes, une hyperzoospermie, une baisse de la libido et une altération de la fertilité (Tableau 11). Cependant, d'autres études chez l'Homme ne mettent pas en évidence d'altération de la qualité du sperme (Rasmussen *et al.*, 1988) ou de réduction de la fertilité (Forkert *et al.*, 2003 ; Sallmén *et al.*, 1998 cité dans US EPA, 2011).

Les études les plus récentes ont montré un certain nombre de modifications des fonctions endocrines, mises en évidence par la mesure des concentrations sériques d'hormones stéroïdiennes notamment, avec des modifications observées pour des expositions de 60 mg.m⁻³ (29,6 ppm, 9-131 ppm, déterminé par mesure atmosphérique individuelle pendant 8h). La signification toxicologique de ces observations n'a cependant pas été investiguée (Chia *et al.* 1996, 1997 ; Goh *et al.* 1998, cités dans DECOS, 2003 et US EPA 2011).

Tableau 11 : Synthèse des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques par inhalation mettant en évidence des effets sur la fertilité masculine (DECOS, 2003 ; US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)

Référence	Population	Exposition	Effets
Bardodej et Vyskocil (1956)	Travailleurs dans le nettoyage à sec ou le dégraissage (n = 32 ♀, 43 ♂) en Tchécoslovaquie	280-3400 mg/m ³ pendant 0,5 -25 ans (51,2 - 621,6 ppm)	Comportement sexuel : ↘ 30% de l'activité (non défini par les auteurs)
El Ghawabi <i>et al.</i> (1973)	Travailleurs dans imprimerie de monnaie (n = 30) en Égypte	TCE, 38-127 ppm Employé jusqu'à 5 ans	↘ libido chez 10 ♂ (33%) (3 ♂ dans le groupe témoin (10%)) (probablement dû à la fatigue selon les auteurs)
Rasmussen <i>et al.</i> (1988)	Travailleurs dans le dégraissage du métal (n = 15) vs médecins non exposés (n = 14) au Danemark	Exposition reportée mais non mesurée	Pas de différence entre les groupes exposé et non exposé ↗ non significative du % de 2 corps fluorescents (YFF) dans les spermatozoïdes Pas d'effet sur le compte spermatique ou la morphologie
Sallmén <i>et al.</i> (1995)	Travailleurs exposées aux solvants de 1973-1983 (n = 282♂) en Finlande	Concentrations estimées par questionnaire et mesure de TCA urinaire Forte exposition : moy = 45 µmol/L (SD 42, médiane = 31 µmol/L) Faible exposition : moy = 41 µmol/L (SD 88, médiane = 15 µmol/L)	Pas d'effet sur la fécondité mesurée par le délai de procréation Faible exposition : FDR** = 0,99 (IC _{95%} = 0,63 -1,56) Moyenne/Forte exposition : FDR = 1,03 (IC _{95%} = 0,60 -1,76)
Chia <i>et al.</i> (1996, 1997) Goh <i>et al.</i> (1998)	Travailleurs dans le dégraissage de l'électronique (n = 85) en Chine	TCE, moyenne = 29,6 ppm (9-131 ppm) (mesure individuelle pendant 8h sur 12 hommes) TCA urinaire = 22,4 mg/g créatinine (0,8-136,4 mg/g créat.)	↘ % de spermatozoïdes de morphologie normale chez 48 travailleurs les plus exposés (TCA ≥ 25 mg/g créatinine) / 37 travailleurs avec la plus faible exposition Absence d'effet sur le volume, la densité et la mobilité du sperme ↗ prévalence hyperzoospermie* avec le niveau TCA urinaire ↗ sulfate de déhydroépiandrostérone (métabolite de l'hormone stéroïde déhydroépiandrostérone) ↘ testostérone sérique, FSH et SHBG ↘ Cortisol, aldostérone et androstérone sériques normaux

SD : standard deviation ; * densité spermique > 120 millions spermatozoïdes/mL d'éjaculat ; ** : FDR : fecundability density ratio

Quelques effets ont été observés chez des femmes exposées au TCE ou à des mélanges de solvants dont le TCE, tels qu'une augmentation des perturbations du cycle menstruel ou une diminution de la fertilité (Tableau 12).

Tableau 12 : Synthèse des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques par inhalation au TCE mettant en évidence des effets sur la fertilité féminine (ATSDR, 2014)

Référence	Population	Exposition	Effets
Bardodej et Vyskocil (1956)	Travailleurs dans le nettoyage à sec ou le dégraissage (n = 32 ♀, 43 ♂) en Tchécoslovaquie	280-3400 mg/m ³ pendant 0,5 -25 ans (51,2 - 621,6 ppm)	↗ 31% des perturbations du cycle menstruel
Zielinsky (1973)	Travailleuses dans une usine de montage de petites pièces électriques en Pologne (n = 184)	Concentration moyenne dans l'air intérieur : 200 mg.m ⁻³ (36,6 ppm)	↗ aménorrhée dans le groupe exposé (18%, n = 140) / non exposé (2%, n = 44)
Lindbohm <i>et al.</i> (1990) Sallmén <i>et al.</i> (1995)	Travailleuses exposées aux solvants de 1973-1983 (n = 197♀) - Finlande	Concentrations estimées par questionnaire et mesure de TCA urinaire (médiane = 48,1 µmol/L, moy = 96,2 ± 19,2 µmol/L)	↘ incidence de fécondabilité chez le groupe le plus exposé mesuré par le temps pour tomber enceinte Faible exposition : IDR = 1,21 (IC _{95%} = 0,73 -2,00) Forte exposition : IDR = 0,61 (IC _{95%} = 0,13 -1,33)

* IDR : incidence density ratio

○ Chez l'animal

Plusieurs études réalisées chez des rongeurs indiquent que l'exposition au TCE :

- perturbe la spermatogenèse (altération du compte spermatique, de la morphologie et de la motilité des spermatozoïdes) (Kumar *et al.*, 2000a, b et 2001 ; Land *et al.*, 1981 cités dans US EPA, 2011 ; Beliles *et al.*, 1980 ; cité dans ATSDR, 2014) ;
- entraîne des modifications des concentrations sériques d'hormones (Kumar *et al.*, 2000a cité dans US EPA, 2011) ;
- entraîne des lésions histopathologiques au niveau des testicules (Kumar *et al.*, 2000b et 2001 cités dans US EPA, 2011) et de l'épididyme (Kan *et al.*, 2007 ; Forkert *et al.*, 2002 cités dans US EPA, 2011) ;
- diminue la capacité de fertilisation des spermatozoïdes (tests de fécondation *in vitro* avec spermatozoïdes de mâles exposés) (DuTeaux *et al.*, 2004 cité dans US EPA, 2011 et ATSDR, 2014) ;
- diminue la capacité des ovocytes à être fécondés chez la femelle (tests de fertilisation *in vitro* avec ovocytes de femelles exposées) (Xu *et al.*, 2004).

Les études de Kumar *et al.* (Kumar *et al.*, 2000 et 2001 cités dans NRC, 2006 ; US EPA, 2011 et ATSDR, 2014) ont montré, chez des rats mâles Wistar exposés par inhalation à 376 ppm (2 055 mg.m⁻³) de TCE 4 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 12 ou 24 semaines, une diminution significative du nombre et de la motilité des spermatozoïdes, ainsi que de l'activité spécifique de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme des stéroïdes (déshydrogénases), accompagnée d'une diminution de la testostérone spermatique. La fertilité de ces mâles a été diminuée lorsque des essais d'accouplement ont été réalisés avec des femelles non traitées. Des investigations complémentaires ont montré que la concentration de cholestérol était plus élevée dans les testicules des rats traités par le TCE que chez les témoins. Ceci a conduit les auteurs à poser l'hypothèse que le TCE agit sur la biosynthèse de la testostérone au niveau testiculaire. D'un point de vue histologique, des investigations complémentaires ont permis

de mettre en évidence une altération des spermatogonies et des spermatides, des tubules séminifères et des cellules de Leydig. La réversibilité des effets n'a pas été étudiée.

Des rats et des souris mâles ont été exposés 7 heures par jour et 5 jours consécutifs à des concentrations de 50 et 100 ppm. A la concentration de 100 ppm (546 mg.m⁻³), les rats ne présentaient pas d'effet sur la fertilité (Beliles *et al.*, 1980 cité dans DECOS, 2003 ; NRC, 2006 ; US EPA, 2011 et ATSDR, 2014).

Chez la souris, Beliles *et al.* (1980) rapportent une augmentation des spermatozoïdes anormaux à 100 ppm tandis que Land *et al.* (1981) ne montrent pas de changement des paramètres spermatiques après une exposition par inhalation de 200 ppm (1090 mg.m⁻³) (DECOS, 2003 ; NRC, 2006, US EPA, 2011 et ATSDR, 2014). Des dégénérescences des cellules épithéliales de l'épididyme ont été constatées chez des souris dès 1 semaine d'exposition au TCE (1000 ppm ; 6h/j, 5j/semaine) ainsi que de nombreuses malformations des spermatozoïdes au niveau de l'épididyme (Khan, 2007 cité dans US EPA, 2011 et ASTDR, 2014). Une étude chez la souris mâle CD-1 exposée à 1 000 ppm pendant 1 à 6 semaines n'a pas mis en évidence d'effets sur les testicules ou sur le sperme (Xu *et al.*, 2004). Cependant, l'accouplement de ces mâles exposés au TCE avec des femelles non exposées a conduit à une diminution significative du pourcentage d'ovocytes fertilisés après 2 et 4 semaines. Par ailleurs, dans un essai *in vitro* de liaison spermatozoïde-ovule, du sperme témoin a été incubé pendant 30 min dans une solution tamponnée de TCE ou de métabolites (hydrate de chloral ou trichloroéthanol - 0,1 à 10 µg.L⁻¹). Bien que le TCE n'ait pas eu d'effet sur la liaison spermatozoïde-ovule, les auteurs ont mis en évidence une diminution de la capacité de liaison pour le sperme incubé avec les métabolites. Les auteurs concluaient que les métabolites (et notamment l'hydrate de chloral) étaient responsables de la reprotoxicité du TCE (Xu *et al.*, 2004).

Tableau 13 : Synthèse des études de reprotoxicité chez l'animal par voie respiratoire (DECOS, 2003 ; US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)

Références	Espèce	Protocole	Concentrations	Effets observés	LOAEC/ NOAEC
Beliles <i>et al.</i> (1980)	Souris CD-1	7 h/j, 5 jours	0, 50, 100 ppm	↗ de 6% des spermatozoïdes anormaux 4 semaines après l'exposition (mais pas 4 jours et 10 semaines après) Lésions des cellules précurseurs de spermatozoïdes mais les spermatogonies n'étaient pas affectées ou étaient capables de se rétablir.	100 ppm / -
	Rats			Pas d'effet sur la morphologie du sperme	- / 100 ppm
Land <i>et al.</i> (1981)	Souris C57BL/C3H (F1) ♂ (n = 5 ou 10/groupe)	4 h/j, 5 jours, 23 j de récupération	0, 200, 2000 ppm	↗ de l'incidence spermatozoïdes épидидymaires anormaux	2 000 / 200 ppm
Kumar <i>et al.</i> (2000a)	Rats Wistar ♂ (n = 12- 13/groupe)	4h/j, 5j/s, 12 ou 24 semaines	0, 376 ppm	↘ compte spermatique épидидymaire et motilité du sperme ↘ testostérone sérique (31-48%), G6PD et 17β-hydroxy stéroïde déshydrogénase ↗ cholestérol testiculaire	376 ppm / -
Kumar <i>et al.</i> (2000b)	Rats Wistar ♂ (n = 12- 13/groupe)	4h/j, 5j/s, 2, 5 et 10 semaines, 2 à 8 semaines de récupération	0, 376 ppm	Altérations histologiques des testicules (tubes séminifères nécrosés, plus petits) ↗ spermatozoïdes anormaux ↗ pertes pré- et post-implantatoires dans les portées chez les rats exposés 2 et 10 semaines et 5 semaines avec 2 semaines de récupération	376 ppm / -
Kumar <i>et al.</i> (2001)	Rats Wistar mâles (n = 6/groupe)	4h/j, 5j/s, 12 ou 24 semaines	0, 376 ppm	↘ significative du gain de poids corporel (22-29%) ↘ significative poids testicules, nombre et motilité des spermatozoïdes Après 12 semaines, ↘ nombre de cellules spermatogéniques dans les tubules séminifères (moins de spermatides, présence de certaines cellules spermatogéniques nécrotiques) Après 24 semaines, testicules atrophiés, tubes séminifères plus petits et presque dépourvus de spermatocytes et spermatides, cellules de Leydig hyperplasiques. ↘ sorbitol deshydrogénase et G6PD testiculaires ↗ glutamyl transférase et β-glucuronidase testiculaires	376 ppm / -

Forkert <i>et al.</i> (2002)	Souris CD-1 ♂ (n = 6/groupe)	6 h/j, 5 j/s, 19 jours sur 4 semaines	0, 1 000 ppm	<p>↑ TCA et TCOH urinaire</p> <p>Présence CYP2E1 et hydroxylation p-nitrophénol dans l'épithélium épидидymaire > cellules de Leydig testiculaires</p> <p>Chloral généré à partir du TCE dans épидидyme > testicules</p> <p>Desquamation des cellules épithéliales épидидymaires après 4 semaines</p>	1 000 ppm/ -
Xu <i>et al.</i> (2004)	Souris CD-1 ♂ (n = 27/groupe)	6 h/j, 5 j/s, 1 et 6 semaines	0, 1 000 ppm	<p>Pas modification du poids corporel, du poids des testicules et de l'épididyme, du nombre de spermatozoïdes, de la morphologie ou de la motilité des spermatozoïdes.</p> <p>↘ liaison <i>in vitro</i> spermatozoïdes – ovule chez ♂ traités ≥ 2 semaines et fécondation <i>in vivo</i></p>	1 000 ppm / -
Kan <i>et al.</i> (2007)	Souris CD-1 mâles (n = 4/groupe)	6 h/j, 5 j/s, 1 jour, 1, 2, 3 ou 4 semaines	0, 1 000 ppm	<p>Dégénérescence importante des cellules épithéliales épидидymaires dès 1 semaine, plus sévère au bout de 4 semaines</p> <p>Formation de vésicules dans le cytoplasme, désintégration des membranes cellulaires basolatérales, desquamation des cellules épithéliales</p> <p>Sperme trouvé <i>in situ</i> dans le cytoplasme des cellules épидидymaires dégénérées.</p> <p>Anomalies de tête et queue des spermatozoïdes situés dans la lumière de l'épididyme</p>	1 000 ppm/ -

- **Mécanisme d'action**

Les effets reprotoxiques chez le mâle semblent également sous la dépendance d'une activation métabolique par le CYP 2E1, mais les détails concernant le ou les métabolites responsables demeurent mal connus. L'impact réel des effets biologiques observés (anomalies morphologiques des spermatozoïdes par exemple) sur la fonction reproductrice des animaux n'est pas avéré, de même que la transposabilité de ces effets sur la fonction reproductrice humaine.

3.4.2 Effets sur le développement

- **Chez l'Homme**

Des études épidémiologiques ont été réalisées en **milieu professionnel**, afin de mettre en évidence un lien entre l'exposition aux solvants et les issues de grossesse. Si certaines issues anormales de grossesse ont été associées à l'exposition professionnelle de la mère aux solvants (fentes orales, retards de croissance, malformations), il n'est pas possible de conclure quant au rôle précis du TCE. Trois études finlandaises en population professionnelle (Taskinen *et al.*, 1989 ; Lindbohm *et al.*, 1990 ; Tola *et al.*, 1980 cités dans DECOS, 2003 ; CE, 2004, NRC, 2006 ; US EPA, 2011 et ATSDR, 2014) n'ont pas mis en évidence un risque accru de fausse couche ou de malformation congénitale suite à une exposition au TCE. En 2012, Gilboa *et al.* ont publié une étude utilisant les données recueillies à partir de huit systèmes de surveillance des malformations congénitales aux États-Unis, pour évaluer les associations entre les malformations cardiaques et l'exposition professionnelle aux solvants des mères. Deux mille quarante sept (2 047) cas de cardiopathie coronarienne et 2 951 témoins (de la même population géographique) ont été interviewés (67-69% de participation) concernant les antécédents professionnels et les covariables potentiellement importantes (ex. tabagisme et démographie). Les hygiénistes industriels ont ensuite évalué les expositions en utilisant des matrices emploi-exposition. Les analyses effectuées par Gilboa *et al.* étaient principalement axées sur les classes de solvants. La prévalence de l'exposition au TCE était pratiquement la même pour les cas et les témoins (3,4% et 3,2%, respectivement, $p < 0,67$) suggérant qu'il n'y a pas d'effet de l'exposition au TCE (Bukowski, 2014). Windham *et al.* ont mis en évidence un risque d'avortement spontané 3 fois plus important chez des femmes exposées (professionnellement ou non) au TCE et d'autres solvants par rapport à celles non exposées (OR = 3,1 ; IC_{95%} = 0,9 – 10,4) (Windham *et al.*, 1991 citée dans ATSDR, 2014). Cette étude n'a pas observé d'association entre l'exposition au TCE pendant les 20 premières semaines de grossesse et la diminution de la croissance fœtale.

Les données issues de grossesses ont été étudiées dans plusieurs cohortes en **population générale** aux États-Unis. Un excès de risque de malformations cardiaques a été mis en évidence, au Wisconsin, chez des enfants nés entre 1997 et 1999 de mères exposées environnementalement au TCE pendant leur grossesse. Les mères étaient considérées exposées lorsqu'elles résidaient dans un rayon de 1,32 miles (environ 2 km) d'un site émettant du TCE. L'âge de la mère exposée au TCE influençait le risque de malformations cardiaques chez leurs enfants : pas de risque pour les enfants de mères exposées de moins de 38 ans (OR = 0,9, IC_{95%} = 0,6 – 1,2), augmentation du risque pour les enfants de mères ≥ 38 ans exposées (OR = 6,2, IC_{95%} = 2,6 – 14,5) ou non exposées (OR = 1,9, IC_{95%} = 1,1 – 3,5) par rapport aux enfants de mères non exposées < 38 ans (Yauck *et al.*, 2004). Ces résultats doivent être interprétés avec prudence du fait du caractère écologique de l'étude ne permettant qu'une approche grossière de l'exposition au TCE et l'absence de prise en compte des principaux facteurs de confusion.

Deux études ont été réalisées sur des résidents de New-York ayant pu être exposés à des COV *via* l'infiltration de gaz du sol (ASTDR, 2006 et 2008 ; Forand *et al.*, 2012 cités dans ATSDR, 2014). Les échantillonnages de gaz du sol conduits en 2000 ont révélé que le TCE était le contaminant prédominant avec des niveaux compris entre 100 et 10 000 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (18-1 800 ppb). Les concentrations de TCE dans l'air intérieur étaient comprises entre 0,18 et 140 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (0,0324 - 25,2 ppb). Dans l'étude de l'ATSDR, la prévalence des malformations cardiaques étaient 2 fois plus importante que celle qui était attendue (SPR = 2,02 ; IC_{95%} = 1,23 – 3,11) chez des enfants de ces résidents (ATSDR, 2006 et 2008 cités dans ATSDR, 2014). Aucun cas d'anomalie du tube neural, de fente orofaciale et d'atrésie choanale⁴ n'a été observé. Aucune association n'a été mise en évidence entre le nombre de morts fœtales spontanées et l'exposition dans cette zone. Forand *et al.* ont mis en évidence des augmentations significatives des risques relatifs de faible poids à la naissance (RR = 1,36 ; IC_{95%} = 1,07 - 1,73 ; n =76), de la faible taille lors de la gestation (RR = 1,23 ; IC_{95%} = 1,03 - 1,48 ; n =117), du faible poids à la naissance à terme (RR = 1,68 ; IC_{95%} = 1,20 - 2,34 ; n =37), de malformations cardiaques (RR = 2,15 ; IC_{95%} = 1,27 - 3,62 ; n =15) et de malformations conotruncales (RR = 4,91 ; IC_{95%} = 1,58 - 15,24 ; n =3) (Forand *et al.*, 2012).

Les observations épidémiologiques sur les malformations (notamment cardiaques) et les retards de croissance intra-utérins réalisées chez l'Homme exposé au TCE principalement *via* l'eau de boisson sont similaires aux observations suite à une exposition par voie respiratoire. Elles sont confortées par des études *in vitro*, mécanistiques et les études animales et montrent une relative concordance dans le type de malformations. Toutefois, selon le NRC (2006), aucune conclusion définitive n'est avancée chez l'Homme et il n'est pas possible d'extraire de ces études une relation dose-réponse, ou une concentration critique bien identifiées pour l'évaluation du risque du TCE, d'autant que les populations sont souvent exposées à plusieurs substances toxiques (solvants halogénés, métaux, etc.). Bukowski (2014) ont analysées 11 d'études épidémiologiques étudiant le lien entre l'exposition au TCE par voie orale et respiratoire et les malformations cardiaques. Quatre études, 3 par voie orale (Goldberg *et al.*, 1990 ; Bove, 1995 et 1996 ; Forand *et al.*, 2012) et une par voie respiratoire (Yauck *et al.*, 2004) montrent une association positive entre l'exposition au TCE et le risque de malformations cardiaques. Cinq études, 3 par voie orale (Lagakos *et al.*, 1986 ; MDPH, 1998 ; Ruckart *et al.*, 2013) et 2 par voie respiratoire (Tola *et al.*, 1980 ; Gilboa *et al.*, 2012) n'ont pas mis en évidence d'association positive avec le TCE. Selon les auteurs, ces données ne fournissent pas de preuve suffisante d'un lien entre l'exposition au TCE et les malformations cardiaques congénitales (Bukowski, 2014).

⁴ L'atrésie choanale est une pathologie rare (1/8000) d'origine congénitale correspondant à la fermeture d'une ou des deux choanes. La choane est l'interface entre la fosse nasale et le pharynx et se situent au fond des fosses nasales. C'est une zone indispensable au bon passage de l'air pour lequel tout rétrécissement ou obstruction entraînera des répercussions respiratoires.

Tableau 14 : Synthèse des études humaines pour des expositions subchroniques et chroniques par inhalation au TCE mettant en évidence des effets sur le développement (US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014)

Référence	Population	Exposition	Effets
Tola <i>et al.</i> (1980)	Travailleurs exposés au TCE en Finlande de 1963-1976 (n = 1 148♂, 969♀)	TCA urinaire = <10 à >500 mg/L	Pas de malformation congénitale
Taskinen <i>et al.</i> (1989)	Travailleurs exposés aux solvants entre 1973-1983 en Finlande (n = 371 ♂120 cas d'avortement spontanés vs 251 témoins)	Questionnaire (faible <1j/sem. ; intermédiaire1-4j/sem. ou niveau de TCA urinaire faible/intermédiaire ; Fort : tous les jours ou niveau fort de TCA urinaire)	Pas de risque d'avortement spontané après exposition paternelle (17 cas et 35 témoins exposés au TCE) (OR = 1 ; IC _{95%} = 0,6-2)
Lindbohm <i>et al.</i> (1990)	Travailleuses exposées aux solvants entre 1973-1983 en Finlande (n = 3 265♀)	Questionnaire TCA urinaire médiane = 48,1 µmol/L (7,9 g/L), moy = 96,2 ± 19,2 µmol/L (15,7 ± 3,1 g/L)	Pas d'augmentation du risque d'avortement spontané (3 cas et 13témoins exposés au TCE) (OR = 0,6 ; IC _{95%} = 0,2 – 2,3)
Windham <i>et al.</i> (1991)	Femmes exposées professionnellement ou non au TCE et autres solvants entre juin 1986 et février 1987 (n = 361) vs non exposées (n = 735) en Californie	Questionnaire pour évaluer l'exposition au TCE et autres solvants (concentration non indiquée)	↗ risque avortement spontané (6 cas, 4 témoins) (OR = 3,1 ; IC _{95%} = 0,92-10,4) (à noter que 4 des cas étaient également exposées au perchloroéthylène) ↗ risque de retard de croissance intra-utérine (1 cas exposé au TCE et perchloroéthylène) (OR = 12,5)
Taskinen <i>et al.</i> (1994)	Travailleuses exposées aux solvants entre 1973-1986 en Finlande (n = 535♀)	Questionnaire (utilisation rare : 1-2 j/sem. ; fréquente : ≥ 3j/sem.)	↗ risque avortement spontané chez les femmes exposées fréquemment (7 cas, 9 témoins) (OR = 1,6 ; IC _{95%} = 0,5-4,8) Pas ↗ malformation congénitale (17 cas, 35 témoins) (OR = 0,6 ; IC _{95%} = 0,2-2,0)
Lorente <i>et al.</i> (2000)	100 bébés avec une fente orale nés de femmes exposés au TCE professionnellement en Europe entre 1989-1992	Questionnaire	↗ fente labiale (OR _{ADJ} = 3,21 ; IC _{95%} = 0,49 -20,9) et de fente palatine (OR _{ADJ} = 4,47 ; IC _{95%} = 1,02-40,9) chez 2/4 femmes exposées
Yauck <i>et al.</i> (2004)	Bébés nés avec des anomalies cardiaques congénitales (n = 245 cas, 3 780 témoins) à Milwaukee, Wisconsin entre 1997-1999	Mère résidant dans un rayon de 1,32 miles d'au moins un site émettant du TCE au moment de la naissance	↗ anomalies cardiaques congénitales pour les mères ≥ 38 ans (exposées OR = 6,2 ; IC _{95%} = 2,6-14,5 ; non exposées OR = 1,9 ; IC _{95%} = 1,1-3,5) Pas ↗ anomalie cardiaque pour les mères <38 ans (OR = 0,9 ; IC _{95%} = 0,6-1,2)
ASTDR (2006 et 2008) Forand <i>et al.</i> (2012)	Résidents d'Endicott, New York (n = 1 440 grossesses dont 1 090 vivant dans la zone d'exposition au TCE)	Air intérieur à partir de vapeurs du sol : 0,18 - 140 µg/m ³ (médiane : 16 µg.m ⁻³)	Pas de risque de mort fœtale (SIR = 0,66 ; IC _{95%} = 0,22-1,55) Faible ↗ de petits poids à la naissance (OR = 1,26 ; IC _{95%} = 1,0 – 1,59) Faible ↗ de nourrissons petits par rapport à leur âge gestationnel (OR = 1,22 ; IC _{95%} = 1,2 – 1,45) ↗ faible poids à la naissance à terme (OR = 1,41 ; IC _{95%} = 1,01 – 1,95)

			Pas ↗ anomalie à la naissance (RR = 1,08 ; IC _{95%} = 0,82-1,42) ↗ anomalies cardiaques totales (RR = 1,94 ; IC _{95%} = 1,21-3,12) ; ↗ anomalies cardiaques sévères (RR = 2,52 ; IC _{95%} = 1,2-5,29) ; ↗ anomalies cardiaques conotrunculaires (RR = 4,83 ; IC _{95%} = 1,81-12,89)
Gilboa <i>et al.</i> (2012)	Cas de malformations cardiaques recueillis dans 8 systèmes de surveillance des malformations congénitales (USA)	Matrice emploi-exposition	Pas d'association entre l'exposition au TCE et les malformations cardiaques

○ Chez l'animal

Les études par inhalation n'ont pas montré d'augmentation du risque de malformation chez des rats ou des souris exposées à 100-600 ppm pendant la gestation (Beliles *et al.*, 1980 ; Carney *et al.*, 2006 ; Hardin *et al.*, 1981 ; Healy *et al.*, 1982 ; Schewtz *et al.*, 1975 cités dans ATSDR, 2014). Une diminution du poids fœtal et une ossification incomplète du squelette ont été mises en évidence chez des rats exposés à 1 800 ppm de TCE 6 h/j pendant les 20 premiers jours de gestation (Dorfmueller *et al.*, 1979 cité dans ATSDR, 2014).

Certaines études animales sont en faveur d'une augmentation de l'incidence des malformations cardiaques avec des différences entre espèces et entre études dans la même espèce. Ces effets ont été mis en évidence pour des expositions orales de TCE dans l'eau de boisson aussi faibles que 0,18 mg.kg⁻¹.j⁻¹ et jusqu'à 132 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez le rat exposé avant et pendant la gestation, ou seulement à 132 mg.kg⁻¹.j⁻¹ chez le rat exposé uniquement pendant la gestation (le pourcentage de malformations cardiaques dans les groupes exposés est de 8 à 9%, contre 3% dans le groupe témoin, ce qui suggère que la pente de la relation dose-réponse est faible) (Santé Canada, 2005). Toutefois, un certain nombre d'autres études animales n'a pas montré de résultats concluants (NRC, 2006 ; CE, 2004).

Les données disponibles fournissent des preuves limitées d'un lien entre l'exposition au TCE et les malformations cardiaques.

Tableau 15 : Synthèse des études de développement chez l'animal par voie respiratoire (ATSDR, 2014)

Références	Espèce	Protocole	Concentrations	Effets observés	LOAEC/ NOAEC	
					maternel	développement
Schewtz <i>et al.</i> (1975)	Rats Sprague-Dawley ♀ (n = 20-35/groupes)	7 h/j, GD 6-15	0, 300 ppm	Toxicité maternelle : ↘ 4-5% poids corporel chez les rats uniquement Développement : pas de toxicité fœtale et d'effet tératogène	300 ppm / -	- / 300 ppm
	Souris Swiss-Webster ♀ (n = 30-40/groupes)					
Dorfmueller <i>et al.</i> (1979)	Rats Long-Evans ♀ (n = 30 mères/groupe)	6 h/j ; 5 j/s 2 semaines avant l'accouplement et/ou GD0-20 4 modalités d'exposition : TCE avant et pendant la gestation ; TCE uniquement avant l'accouplement, TCE uniquement pendant la gestation, air avant et pendant la gestation	0 ou 1 800 ppm ± 200 ppm	Toxicité maternelle : / Développement : ↗ anomalies squelettiques (ossification incomplète au niveau du sternum) et des tissus mous (ovaires déplacés) chez les fœtus des mères exposées uniquement pendant la gestation. Pas modification comportement des petits 10, 20 ou 100 j postpartum ↘ gain poids chez petits des mères exposées avant la gestation	- / 1 800 ppm	1800 ppm/-
Beliles <i>et al.</i> (1980) Hardin <i>et al.</i> (1981)	Rats Sprague Dawley ♀ (n = 30/groupe)	6-7 h/j ; 5 j/s, 3 semaines avant la période prégestationnelle et GD 1-19	0 ou 500 ppm	Pas de toxicité maternelle et fœtale	- / 500 ppm	- / 500 ppm
	Lapins New Zealand white ♀ (n = 20/groupe)	6-7 h/j, 5 j/s, GD 1-24+/- 3 semaines avant la période prégestationnelle	0 ou 500 ppm	Pas de toxicité maternelle Développement : Hydrocéphalie (4 fœtus appartenant à 2 portées sur 23) (non significatif, suggère selon les auteurs un effet tératogène car effet rarement observé chez les témoins)	- / 500 ppm	500 ppm / -
Healy <i>et al.</i> (1982)	Rats Wistar ♀ (n = 31-32 mères/groupes)	4h/j ; GD8-21	0 ou 100 ppm	Pas de toxicité maternelle Développement : ↗ portées avec résorption totale (21,9% vs 6,5% chez témoins) ↘ poids fœtal et ↗ centres d'ossification squelettiques absent ou bipartites (suggérant selon les auteurs d'un retard de la maturation squelettique fœtale)	- / 100 ppm	100 ppm / -
Westergen <i>et al.</i> (1984)	Souris NMRI (n = 6-12 petits/groupe)	24h/j, 30j (7 jours accouplement jusqu'à GD22)	0 ou 150 ppm	↘ gravité spécifique du cerveau à PND0, 10 et 20-22. Effets similaires à PND 20-22 dans le cortex occipital et le cervelet. Aucun effet chez petit d'1 mois.	/	150 ppm / -
Carney <i>et al.</i> (2006)	Rats Sprague Dawley ♀ (n = 27 mères/groupe)	6 h/j ; GD 6-20	0, 50, 150 ou 600 ppm	Toxicité maternelle ; ↘ de 22% gain de poids corporel de GD6-9 à 600 ppm Développement : Pas de malformation	600 ppm /150 ppm	600 ppm/ -

3.5 Génotoxicité

Le CIRC (2014a), l'ATSDR (2014), l'ECHA (2014), le NTP (2015), l'US EPA (2011) ainsi que certaines revues (Moore et Harrington-Brock, 2000 ; Tabrez et Ahmad, 2009 ; Lash *et al.*, 2014 ; Rusyn *et al.*, 2014) ont réalisé une analyse critique de la littérature sur les effets mutagènes et génotoxiques *in vitro* et *in vivo* du TCE et de ses métabolites. De très nombreuses études ont été conduites. La plupart d'entre elles sont relativement anciennes et réalisées selon des protocoles non conformes aux recommandations internationales (lignes directrices de l'OCDE, notamment). Néanmoins, toutes les évaluations ont conclu de façon identique. Le TCE est un agent mutagène indirect en raison de la formation de métabolites génotoxiques (principalement ceux impliquant la voie du glutathion).

3.5.1 *In vitro*

○ Liaisons et dommages à l'ADN et aux protéines

Plusieurs études montrent que l'exposition *in vitro* au TCE pur peut conduire à la formation d'adduits à l'ADN et aux protéines, très probablement en raison de la formation de métabolites réactifs (Griffin *et al.* 1998 cité dans ATSDR, 2014 ; Banerjee et Van Duuren, 1978 ; DiRenzo *et al.*, 1982 ; Bergman, 1983 ; Miller et Guengerich, 1983 ; Mazzullo *et al.* 1992 ; Cai et Guengerich, 2001 cités dans CIRC, 2014a et NTP, 2015).

Une étude menée par Robbiano *et al.* montre que le TCE induisait des cassures de l'ADN (test des comètes) dans des cultures primaires de cellules rénales humaines et murines (Robbiano *et al.*, 2004). Néanmoins les auteurs soulignent les limites de l'expérimentation nuanciant par conséquent l'interprétation des résultats (observation sur 3 donneurs seulement, variation importante de la fréquence de dommages à l'ADN induites dans les cellules, ...). Ils concluent au possible effet génotoxique du TCE sur cellules rénales. Ces résultats pourraient être attribuables aux métabolites du TCE puisque les cellules primaires en culture conservent généralement leurs capacités d'activation métabolique endogènes. Un résultat identique a été obtenu lors d'un test des comètes réalisé sur la lignée cellulaire HepG2 issue d'un hépatocarcinome humain et possédant aussi des capacités métaboliques bien caractérisées (Hu *et al.*, 2008). Dans cette même étude, les auteurs ont également montré une augmentation du niveau de la peroxydation lipidique [par la mesure des TBARS (thiobarbaturic acid reactive substances)] et de la formation de dommages oxydatifs à l'ADN [par la mesure de la 8-OHdG (8-hydroxy-2'-déoxyguanosine)]. Ils émettent ainsi l'hypothèse d'un mode d'action oxydant du TCE *in vitro*, conduisant à des effets génotoxiques. Néanmoins, les dommages oxydatifs à l'ADN seraient peut-être plutôt secondaires/indirects aux phénomènes de lipo-péroxydation.

Plusieurs essais de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) *in vitro* ont été réalisés. Une étude menée sur des cellules pulmonaires humaines WI-38 a montré une faible réponse positive (Beliles *et al.*, 1980 cité dans ATSDR, 2014). De même, dans un test UDS réalisé sur des cultures primaires de lymphocytes humains, un effet génotoxique du TCE sans stabilisant (pureté de 97 à 99%) a été montré, uniquement en présence d'activation métabolique (Perocco et Prodi, 1981 cité dans ATSDR, 2014 ; NTP, 2015 et CIRC, 2014a). A l'inverse, des résultats négatifs ont été

rapportés dans des cultures primaires d'hépatocytes de rat et de souris exposées à des vapeurs de TCE pur (Shimada *et al.*, 1985 et Williams 1989 cités dans ATSDR, 2014 ; NTP, 2015 et CIRC, 2014a). Enfin, lorsque le TCE est testé en présence de stabilisant, ou de pureté inconnue, des résultats équivoques (positifs et négatifs) ont été obtenus (Costa et Ivanetich, 1984 ; Shimada *et al.*, 1985 ; Williams *et al.*, 1989 ; Milman *et al.*, 1988 cités dans ATSDR, 2014 ; NTP, 2015 et CIRC, 2014a).

Trois tests de transformation cellulaire ont été réalisés sur des cellules de souris BALB/c-3T3 et des cellules embryonnaires de rat et de hamster syrien exposées au TCE (pur et non pur). Des résultats positifs ont été obtenus en absence d'activation métabolique (Tu *et al.*, 1985 ; Amacher et Zelljadt, 1983 ; Price *et al.*, 1978 cités dans ATSDR, 2014 ; CIRC, 2014a et NTP, 2015). Contrairement aux autres essais de génotoxicité à court terme basés sur la mise en évidence d'évènements très spécifiques, tels que l'apparition de mutations ou d'aberrations chromosomiques, le test de transformation cellulaire utilise la modification phénotypique des cellules. L'intérêt de ce test est de pouvoir détecter les cancérrogènes génotoxiques ainsi que les cancérrogènes non génotoxiques (épigénétiques).

- **Mutations géniques**

- **Sur champignons et levures**

Le potentiel du TCE à induire des mutations et conversions géniques, des recombinaisons et crossing-over mitotiques ainsi que de l'aneuploïdie a été évalué sur différents systèmes eucaryotes (*Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus nidulans*, *Schizosaccharomyces pombe*). Les essais présentant des résultats positifs (avec et/ou sans activation métabolique exogène) ont tous été réalisés avec du TCE dont la pureté n'est pas connue, suggérant que la mutagénicité pourrait être liée à la présence de stabilisants époxydes mutagènes (Crebelli *et al.*, 1985 ; Bronzetti *et al.*, 1978 ; Rossi *et al.*, 1983 cités dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014a ; ATSDR, 2014 et ECHA, 2014).

- **Sur bactéries**

L'étude du potentiel mutagène du TCE sur bactéries (test d'Ames) a été conduite sur différentes souches de *Salmonella typhimurium* et sur une souche d'*Escherichia coli*, avec et sans système d'activation métabolique exogène (S9). De nombreux essais ont été réalisés en absence (TCE pur, de qualité analytique) ou en présence de stabilisants (qualité commerciale) (NTP, 2015 ; CIRC, 2014a). Dans la grande majorité des études des modifications ont été apportées au protocole expérimental standard afin de pouvoir exposer les cultures bactériennes au TCE sous forme de vapeur plutôt que sous forme liquide (Baden *et al.*, 1979 ; Bartsch *et al.*, 1979 ; Henschler *et al.*, 1977 ; McGregor *et al.*, 1989 ; Mortelmans *et al.*, 1986 ; Shimada *et al.*, 1985 ; Waskell *et al.*, 1978 ; Crebelli *et al.*, 1982 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014a). Des résultats positifs et reproductibles ont été obtenus dans la plupart des essais réalisés sur la souche de *S. typhimurium* TA100 avec du TCE pur, en présence d'activation métabolique (NTP, 2015 ; ATSDR, 2014). Deux études ont également mis en évidence un effet faiblement mutagène du TCE pur sur TA1535, avec et sans activation métabolique. La souche TA100 ayant été dérivée de la souche TA1535 par l'ajout du plasmide pKM101 pour la rendre plus sensible, les résultats identiques obtenus avec ces deux souches sont cohérents. En revanche, les études réalisées sur les autres souches bactériennes TA97, TA98 et TA1537 n'ont pas montré d'activité mutagène du TCE. Les différentes souches de *S. typhimurium* permettent d'apprécier le type de mutations ponctuelles induites par le

produit à tester. Les résultats négatifs obtenus dans les souches TA97, TA98 et TA1537 suggèrent que le TCE n'induit pas d'addition ou de délétion de paires de bases de l'ADN (mutations par décalage du cadre de lecture) alors que les résultats positifs observés avec les souches TA1535 et TA100 mettent en évidence des substitutions de paires de bases. Une étude a montré que la souche de *S. typhimurium* YG7108pin3ERb5 exprimant le CYP 2E1 est capable de métaboliser le TCE (pureté $\geq 99,5\%$) en métabolites toxiques et mutagènes, en l'absence d'activation métabolique exogène (Emmert *et al.*, 2006).

Des essais ont également été effectués avec du TCE de pureté inconnue ou en présence de stabilisants oxiranes (époxydes), principalement l'épichlorhydrine et le 1,2-époxybutane. L'Homme est exposé principalement, voire exclusivement, à des préparations commerciales de TCE contenant des stabilisants. Ces composés sont connus pour être mutagènes ce qui rend difficile l'interprétation des résultats positifs. En effet, ces composés pourraient être responsables de l'activité mutagène du TCE dans les tests de mutation reverse sur bactéries, ce qui a souvent, mais pas systématiquement, été rapporté. Des résultats contradictoires ont été obtenus. Mc Gregor *et al.* ont montré que des vapeurs de TCE stabilisé avec de l'épichlorhydrine ou du 1,2-époxybutane induisaient une augmentation significative du nombre de mutants pour les souches TA1535 et TA100 (pas pour TA98), avec et sans activation métabolique mais à des niveaux de doses toxiques (Mc Gregor *et al.*, 1989). A l'inverse, Henschler *et al.* et Waskell *et al.* n'ont pas mis en évidence d'effet mutagène du TCE stabilisé sur TA100 (\pm S9) (Henschler *et al.*, 1977 ; Waskell *et al.*, 1978 cités dans NTP, 2015).

▪ Sur cellules de mammifères

Un test *in vitro* de mutation génique au locus thymidine kinase (tk) sur cellules de lymphome de souris L5178Y (test MLA/tk pour Mouse Lymphoma Assay) a permis de mettre en évidence un effet mutagène du TCE (pureté $\geq 99\%$), uniquement en présence d'activation métabolique. Cependant, cet effet n'a pas été retrouvé sur cellules lymphoblastoïdes humaines TK6, avec et sans S9 (Caspary *et al.* 1988 cité dans NTP, 2015 et CIRC, 2014a).

○ Aberrations chromosomiques

Plusieurs tests ont été menés afin d'évaluer le potentiel génotoxique *in vitro* du TCE sur cellules de mammifères.

Quatre tests du micronoyau *in vitro* ont été effectués en absence d'activation métabolique avec du TCE de pureté $\geq 99\%$ ou inconnue. Robbiano *et al.* ont rapporté une augmentation de la fréquence des micronoyaux sur cultures primaires de cellules de rein humaines et murines (Robbiano *et al.*, 2004 cité dans ATSDR, 2014 ; NTP, 2015 et CIRC, 2014a). Hu *et al.* ont obtenu un résultat identique sur cellules humaines HepG2 (Hu *et al.*, 2008 cité dans NTP, 2015). Ces résultats pourraient être attribuables aux métabolites du TCE, comme expliqué précédemment (cf. § « Liaisons et dommages à l'ADN et aux protéines »). Cependant, une augmentation significative du nombre de micronoyaux sur cellules CHO-K1 traitées avec du TCE (pureté $> 99,5\%$) sans S9 a également été rapporté, suggérant ici l'absence d'implication du métabolisme (Wang *et al.*, 2001 cité dans NTP, 2015). Seule l'étude de Kumar *et al.* effectuée sur lymphocytes humains a donné un résultat négatif (Kumar *et al.*, 2009 cité dans NTP, 2015)

Plusieurs auteurs ont étudié l'induction d'aberrations chromosomiques *in vitro*. Aucun effet clastogène et/ou aneugène n'a été observé, avec et sans S9, sur cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) traitées avec du TCE pur (Galloway *et al.*, 1987 cité dans NTP, 2015 et CIRC, 2014a) et sur cellules de poumon de hamster chinois (CHL) traitées avec du TCE de pureté inconnue (Sofuni *et al.*, 1985 cité dans NTP, 2015 et CIRC, 2014a). Un résultat négatif a également été obtenu après traitement de lymphocytes humains par du TCE de pureté inconnue, sans activation métabolique (Kumar *et al.*, 2009 cité dans NTP, 2015).

Les essais *in vitro* d'échanges de chromatides-sœurs (SCE) réalisés sur cellules ovariennes de hamsters chinois exposées au TCE n'ont pas permis de conclure en raison de problèmes méthodologiques (temps de traitement court, niveau de doses trop faible, absence de contrôle positif) (White *et al.*, 1979 cité dans NTP, 2015) ou de résultats équivoques (Galloway *et al.*, 1987 cité dans CE, 2004). En revanche, Gu *et al.* ont observé une réponse positive en absence d'activation métabolique sur des lymphocytes humains en culture exposés au TCE sans stabilisants (Gu *et al.*, 1981 cité dans CE, 2004 ; CIRC, 2014a et NTP, 2015).

3.5.2 *In vivo*

○ Liaisons et dommages à l'ADN et aux protéines

Plusieurs études *in vivo* ont mis en évidence la formation d'adduits aux acides nucléiques (ADN et ARN) et aux protéines dans différents organes chez le rongeur traité au TCE.

Kautiainen *et al.* ont montré que les métabolites du TCE se liaient à l'ADN de manière dose-dépendante dans le foie de souris mâles B6C3F1 traitées par injection intrapéritonéale de TCE (pureté > 95%) marqué au ¹⁴C (Kautiainen *et al.*, 1997). Mazzullo *et al.* ont aussi mis en évidence une liaison du TCE à l'ADN, bien que qualifiée de « faible » par les auteurs (estimée à 0,15 adduits par million de nucléotides), dans le foie, les reins, les poumons et l'estomac de souris et de rats traités par injection intrapéritonéale de TCE pur (à 99,8%) (Mazzullo *et al.*, 1992). En revanche, des résultats équivoques ont été obtenus dans d'autres études (Bergman, 1983 ; Stott *et al.*, 1982 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014a ; Parchman et Magee, 1982 cité dans CIRC, 2014a).

Concernant la formation d'adduits aux protéines, cet effet a été rapporté par Stott *et al.* dans le foie et les reins de souris exposées par inhalation au [¹⁴C]TCE (pureté > 99,9%, stabilisé avec une amine), mais pas chez les rats (Stott *et al.*, 1982). Kautiainen *et al.* ont également montré que les métabolites du [¹⁴C]TCE (pureté > 95%) formaient des adduits aux protéines dans le foie de souris traitées par voie intrapéritonéale (Kautiainen *et al.*, 1997).

Deux essais de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) *in vivo* ont été réalisés sur des hépatocytes de rats et de souris traités par voie orale au TCE pur ou de pureté inconnue. Des résultats négatifs ont été rapportés (Mirsalis *et al.*, 1989 ; Doolittle *et al.*, 1987 cités dans NTP, 2015 ; ATSDR, 2014 et CIRC, 2014a). Nelson et Bull ont mis en évidence des cassures simple-brin de l'ADN dans le foie de rongeurs (rats et souris) après administration par voie orale de fortes doses de TCE (pureté > 99%). Les auteurs ont également montré l'importance du métabolisme du TCE (implication des métabolites acide trichloroacétique, acide dichloroacétique et hydrate de chloral) et d'un pré-traitement au phénobarbital (inducteur enzymatique du métabolisme) dans l'induction de lésions primaires de l'ADN (Nelson et Bull, 1988 cité dans ATSDR, 2014). D'autres études effectuées chez la souris traitée par voie intrapéritonéale avec du TCE sans stabilisant ont

donné des réponses variables dans le foie, le rein et le poumon (Parchman et Magee, 1982 ; Walles, 1986 cités dans ATSDR, 2014 ; NTP, 2015 et CIRC, 2014a), ainsi que dans un spot test chez la souris (Fahrig, 1977 cité dans ATSDR, 2014 ; NTP 2015 et CIRC, 2014a). Dans une étude plus récente, un test des comètes réalisé sur cellules rénales de rats exposés par inhalation au TCE pur à la concentration de 2000 ppm (6 heures/jour pendant 5 jours) n'a pas mis en évidence d'induction de dommages à l'ADN (Clay, 2008 cité dans ATSDR, 2014 ; NTP, 2015 et CIRC, 2014a). A l'inverse, un effet génotoxique a été trouvé dans un autre test des comètes *in vivo* réalisé sur cellules rénales de rats Sprague-Dawley traités au TCE (degré de pureté élevé) par voie orale (Robbiano *et al.*, 2004 cité ATSDR, 2014 ; CIRC, 2014a ; NTP, 2015).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré l'induction d'un stress oxydatif *in vivo* suite à un traitement au TCE ou à ses métabolites. Néanmoins, dans ces études, les dommages oxydatifs à l'ADN (formation de 8-OHdG notamment) sont associés, et donc indirects/secondaires, à des phénomènes de peroxydation lipidique [taux élevé de TBARS, formation de malondialdéhyde, 4-hydroxy-2-nonenal, d'adduits M1G (3-(2-deoxy-β-D-erythro-pentofuranosyl-pyrimidol[1,2-a]purin-10(3H)-one)] (Toraason *et al.*, 1999 cité dans ATSDR, 2014 et CIRC, 2014a ; Channel *et al.*, 1998 cité dans US EPA, 2011 ; Von Tugeln *et al.*, 2002). Lock et Reed ont même examiné les données publiées sur le TCE et ses métabolites et indiquent que le TCE n'a ni action directe génotoxique (adduit stable sur l'ADN), ni action indirecte *via* un stress oxydatif (Lock et Reed, 2006).

○ Mutations géniques

Un essai de mutation génique sur souris transgéniques LacZ exposées par voie respiratoire n'a pas mis en évidence d'effet mutagène *in vivo* du TCE pur (Douglas *et al.*, 1999 cité dans CIRC, 2014a et NTP, 2015).

○ Aberrations chromosomiques

La quasi-totalité des études a été effectuée avec du TCE sans stabilisant (pureté ≥ 99%).

Robbiano *et al.* ont montré que l'exposition au TCE *in vivo* induit la formation de micronoyaux dans des cellules rénales de rats Sprague-Dawley traités par voie orale à forte dose (Robbiano *et al.*, 2004 cité dans ATSDR, 2014 ; CIRC, 2014a et NTP, 2015 ; Robbiano *et al.*, 1998 cité dans ATSDR, 2014). Kligerman *et al.* ont montré que l'exposition par inhalation au TCE pur de rats CD mâles induisait une augmentation dose dépendante de la formation de micronoyaux dans les cellules de la moelle osseuse. Cet effet génotoxique n'a pas été retrouvé dans les lymphocytes du sang périphérique des rongeurs (Kligerman *et al.*, 1994 cité dans NTP, 2015 et CIRC, 2014a). De même, dans une récente étude conduite conformément aux lignes directrices internationales de l'OCDE (OCDE TG 474), de l'US EPA (1998) et de l'EC (2000) et selon les principes des Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), ce résultat n'a pas été confirmé. En effet, Wilmer *et al.* ont réalisé un test du micronoyau *in vivo* sur moelle osseuse de rats CD mâles exposés au TCE (pureté de 99,97%) par inhalation à des concentrations de 50, 500, 2500 et 5000 ppm pendant 6 heures. La sévérité des signes cliniques et la mortalité observée à la plus forte concentration d'exposition confirment l'atteinte, voire le dépassement, d'une dose maximale tolérée et la biodisponibilité systémique du TCE dans le tissu cible (moelle osseuse). Aucune augmentation statistiquement significative de la fréquence de micronoyaux n'a été relevée. Dans les conditions expérimentales utilisées, le TCE a été considéré comme négatif dans le test du micronoyau de la moelle osseuse chez le rat (Wilmer *et al.*, 2014).

Plusieurs autres tests du micronoyau *in vivo* ont été effectués chez la souris traitée au TCE par différentes voies (inhalation, orale et intrapéritonéale). Différents types cellulaires ont été étudiés (érythrocytes de la moelle osseuse, lymphocytes du sang périphérique, spermatocytes et splénocytes). Des résultats équivoques ont été observés (Duprat et Gradiski, 1980 ; Hrelia *et al.*, 1994 ; Shelby *et al.*, 1993 ; Kligerman *et al.*, 1994; Allen *et al.*, 1994 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014a ; Sujatha et Hegde, 1998 cité dans ATSDR, 2014) Dans l'étude de Hrelia *et al.*, une corrélation entre l'augmentation de la fréquence de micronoyaux dans les cellules de la moelle osseuse de souris exposées au TCE et la mesure de trichloroéthanol urinaire a été établie (Hrelia *et al.*, 1994 cité dans CIRC, 2014a et NTP, 2015).

Sujatha et Hegde ont rapporté des changements mitotiques (augmentation de l'index mitotique, diminution de la fréquence d'anaphases) dans les érythrocytes de la moelle osseuse de souris traitées au TCE (pureté de 99%) par voie intrapéritonéale, suggérant ainsi un potentiel aneugène du TCE. Aucun effet sur l'induction d'aberrations chromosomiques n'a été trouvé (Sujatha et Hegde, 1998).

Un essai de mutation létale dominante chez des souris mâles exposées au TCE pur (de 50 à 450 ppm) pendant 24 h puis accouplées à des femelles non traitées n'a pas mis en évidence de mutations résultant d'aberrations chromosomiques dans les cellules germinales (Slacik-Erben *et al.*, 1980 cité dans CIRC, 2014a et ATSDR, 2014).

Enfin, un essai *in vivo* d'échange de chromatides-sœurs réalisé sur des lymphocytes de rats et des splénocytes de souris exposées par inhalation n'a pas mis en évidence d'effet génotoxique du TCE (pureté > 99%) (Kligerman *et al.* 1994).

3.5.3 Etudes chez l'Homme

Relativement peu d'études sur la génotoxicité du TCE ont été réalisées chez l'Homme et aucune étude supplémentaire n'a été menée depuis l'évaluation du CIRC en 1995 (CIRC, 2014a). Néanmoins, une étude transcriptomique réalisée par Varshney *et al.* en 2015 a montré des modifications des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire (augmentation des niveaux d'expression des ARNm des gènes p53, p21 et bax ainsi que diminution des niveaux d'ARNm de bcl-2) chez des travailleurs exposés au TCE. Les gènes p53 et p21 sont connus pour jouer un rôle essentiel dans la réponse aux dommages à l'ADN (Varshney *et al.*, 2015).

○ Aberrations chromosomiques

Plusieurs études ont été réalisées sur des lymphocytes du sang périphérique de travailleurs exposés de façon chronique au TCE (NTP, 2015 ; CIRC, 2014a). La plupart d'entre elles souffrent cependant de certaines limites telles que le faible nombre d'individus exposés, la présence de facteurs confondants (exposition simultanée aux rayons X ou à d'autres produits chimiques/solvants, infections virales, consommation d'alcool) ou l'absence d'analyse statistique.

Une augmentation de l'induction d'aberrations chromosomiques (gaps, cassures, translocations, délétions, inversions et hyperdiploïdie) a été mise en évidence dans les lymphocytes de travailleurs exposés au TCE (Rasmussen *et al.*, 1988). Gu *et al.* ont montré qu'une exposition au TCE ou à ses métabolites (trichloroéthanol et hydrate de chloral) augmentait le nombre d'échanges de chromatides-sœurs (Gu *et al.*, 1981). Seiji *et al.*, contrairement à Nagaya *et al.*, ont également montré qu'une co-exposition à la fumée de cigarette et au TCE augmentait le taux

d'échange de chromatides-sœurs en raison de possibles effets synergiques (Seiji *et al.* 1990 ; Nagaya *et al.*, 1989).

Ces résultats ne permettent pas de conclure quant au potentiel génotoxique du TCE chez l'Homme mais l'augmentation du nombre d'aberrations chromosomiques est néanmoins une preuve suffisante pour soutenir qu'un effet génotoxique est possible (Tabrez et Ahmad, 2009 cité dans CIRC, 2014a).

○ Mutations du gène VHL

Plusieurs études ont évalué l'association entre l'exposition au TCE et la mutation du gène suppresseur de tumeur VHL (Von Hippel-Lindau) conduisant au développement ultérieur de carcinomes cellulaires rénaux chez des sujets fortement exposés. Ces études n'ont cependant pas été concluantes. Trois études réalisées en Allemagne ont bien montré que le TCE induisait des mutations au niveau du gène VHL mais que l'exon le plus souvent touché différait (Brüning *et al.*, 1997 ; Brauch *et al.*, 1999 ; Brauch *et al.*, 2004 cités dans CIRC, 2014a). Ces résultats n'ont pas été reproduits dans deux études plus récentes réalisées en France (Charbotel *et al.*, 2007) et en Europe (Moore *et al.*, 2011). Il semble que des difficultés méthodologiques (méthode de préparation des tissus) et le risque de biais dans la sélection des sujets dans certaines études aient empêché de tirer des conclusions définitives (CIRC, 2014a).

3.5.4 Génotoxicité des métabolites

Il est reconnu que le métabolisme du TCE joue un rôle très important dans son mécanisme d'action génotoxique. Le TCE est métabolisé par deux voies différentes : l'oxydation par les CYP450 et la conjugaison au glutathion (GSH).

La voie oxydative conduit à la formation de divers produits d'oxydation tels que le chloral, l'hydrate de chloral, le TCA, le TCOH, le trichloroéthanol glucuronide, le chlorure de dichloroacétyle (DCAC), le DCA, l'acide formique et l'acide oxalique. La plupart de ces métabolites sont chimiquement stables et reconnus cytotoxiques (CIRC, 2014a).

La voie dépendante du GSH, quant à elle, conduit à la formation de métabolites chimiquement plus réactifs (CIRC, 2014a), notamment le DCVG, le DCVC et le NAcDCVC.

La génotoxicité de certains métabolites du TCE a fait l'objet d'un examen approfondi (US EPA, 2011 ; ECHA, 2014 ; NTP, 2015 ; CIRC, 2014a, b, c et d). Il a été prouvé que les métabolites du TCE impliquant la voie du GSH, à savoir la DCVC et dans une moindre mesure le DCVG et la NAcDCVC, présentent une activité génotoxique plus importante, en particulier dans les reins où le métabolisme *in situ* produit et/ou bioactive ces métabolites. Les preuves de la génotoxicité des métabolites oxydatifs sont moins solides puisqu'ils ont été moins bien étudiés. Le métabolite le plus génotoxique est l'hydrate de chloral suivi du DCA. Le TCA n'est pas génotoxique et il n'est pas possible de conclure sur la génotoxicité du TCOH en raison du peu d'études disponibles.

- **Voie du cytochrome P450**
 - **Trichloroéthanol (TCOH)**

Le potentiel génotoxique du TCOH a été assez peu étudié. Il n'entraîne pas de mutation génique dans les souches de *S. typhimurium* TA98, TA100 et TA1535, avec et sans activation métabolique exogène (Waskell, 1978, Bignami *et al.*, 1980, DeMarini *et al.*, 1994 cités dans CIRC, 2014a et Rusyn *et al.*, 2014). En revanche, une augmentation de la fréquence de mutation reverse a été observée sur la souche TA104 en présence de S9 à une dose supérieure à 2500 µg/plaque (Beland, 1999 cité dans CIRC, 2014a ; NTP 2015 et Rusyn *et al.*, 2014). Dans des lymphocytes humains du sang périphérique en culture, en absence d'activation métabolique, le TCOH induit la formation de micronoyaux (Varshney *et al.*, 2013 cité dans NTP, 2015) et d'échanges de chromatides-sœurs (Gu *et al.*, 1981 cité dans CIRC, 2014a). Le TCOH n'a pas été évalué dans les autres essais de génotoxicité/mutagenèse, ni *in vitro* ni *in vivo*.

- **Acide trichloroacétique (TCA)**

D'après le CIRC, l'ensemble des données *in vitro* et *in vivo* disponibles suggèrent que le TCA n'est pas génotoxique (pour le détail de toutes les études réalisées, se rapporter à la monographie du CIRC, 2014b).

In vitro, le TCA aurait un faible potentiel génotoxique et mutagène. Il a été étudié dans de nombreux tests de mutation génique sur bactéries (sur *S. typhimurium* et *E. coli*), avec et sans activation métabolique (NTP, 2015 ; CIRC, 2014b). L'ensemble des résultats n'a montré aucun effet mutagène du TCA sauf dans deux études dans lesquelles une induction de mutations a été rapportée dans les souches de *S. typhimurium* TA1535 avec S9 et TA100 avec et sans S9 (Giller *et al.*, 1997, Ono *et al.*, 1991 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014b). Deux essais *in vitro* de mutation génique sur cellules de mammifères (test MLA/tk et test au locus HPRT sur cellules CHO-K1) ont également rapporté un effet mutagène du TCA mais uniquement à des concentrations cytotoxiques (Harrington-Brock *et al.*, 1998 et Zhang *et al.*, 2010 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014b ; Rusyn *et al.*, 2014). Aucune cassure de brin de l'ADN n'a été observée dans plusieurs types cellulaires (hépatocytes de rats, cellules CHO et lymphocytes humains) (Chang *et al.*, 1992 cité CIRC, 2014b et Rusyn *et al.*, 2014 ; Plewa *et al.* 2002 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014b). En revanche, dans une étude plus récente, Zhang *et al.* ont réalisé un test des comètes sur cellules HepG2 traitées au TCA et ont mis en évidence une augmentation dose-dépendante des cassures de l'ADN (Zhang *et al.*, 2012 cité dans NTP, 2015).

In vivo, le TCA a induit des aberrations chromosomiques dans la moelle osseuse de souris et de poulets traités par voie orale ou intrapéritonéale (Bhunya et Behera, 1987 ; Bhunya et Jena, 1996 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014b). Les tests des micronoyaux ont quant à eux donné des résultats équivoques (Giller *et al.* 1997 ; Bhunya et Behera, 1987 ; Mackay *et al.*, 1995 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014b). De même, les études *in vivo* relatives à l'évaluation des cassures de l'ADN induites par le TCA ont donné des résultats contradictoires (Nelson et Bull, 1988 ; Nelson *et al.*, 1989 ; Hassoun *et al.*, 2010b ; Styles *et al.*, 1991 ; Chang *et al.*, 1992 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014b).

▪ Hydrate de chloral

De nombreuses études ont été réalisées *in vitro* et *in vivo*. En 2014, le CIRC a conclu que l'hydrate de chloral est un agent génotoxique *in vitro* et *in vivo* (pour le détail de toutes les études réalisées, se reporter à la monographie du CIRC, 2014c).

Les études *in vitro* montrent que l'hydrate de chloral est un composé génotoxique et mutagène direct. Des réponses positives ont été obtenues pour la plupart des paramètres testés (mutations ponctuelles, cassures de l'ADN, échanges de chromatides sœurs, aberrations chromosomiques, micronoyaux, aneuploïdie)

Plusieurs tests de mutations reverses sur bactéries ont donné des réponses positives avec et sans activation métabolique, uniquement dans la souche de *S. typhimurium* TA100 indiquant donc la formation de substitutions de paires de bases. Un faible effet mutagène a été mis en évidence sur cellules de lymphomes de souris L5178Y (test MLA/tk) dans deux études (Harrington-Brock *et al.*, 1998 ; Fellows *et al.*, 2011 cités dans CIRC, 2014c ; Rusyn *et al.*, 2014) mais n'a pas été confirmé dans une troisième étude (Liviak *et al.*, 2011 cité dans NTP, 2015 et CIRC, 2014c).

Par ailleurs, les études montrent clairement que l'hydrate de chloral est un agent génotoxique *in vitro* car il induit la formation, avec et sans S9, d'aberrations chromosomiques, de micronoyaux et d'échanges de chromatides-sœurs dans des cellules de mammifères en culture (lymphocytes humains du sang périphérique, cellules L5178Y, cellules de hamster chinois CHO, C1, LUC2, CHED, V79, ...) (NTP, 2015 ; CIRC, 2014c). De plus, il a été prouvé que l'hydrate de chloral agit comme un poison du fuseau conduisant à des phénomènes d'aneuploïdie (perte ou gain de chromosomes entiers), aussi bien dans les cellules en mitose qu'en méiose, dans des systèmes eucaryotes (*S. cerevisiae* et *A. nidulans*), des cellules somatiques de mammifères en culture et des spermatozoïdes de souris (ECHA, 2014 ; NTP, 2015 ; CIRC, 2014c).

Des cassures simple-brin de l'ADN ont été mises en évidence dans un test des comètes sur cellules lymphoblastoïdes humaines TK6 traitées à l'hydrate de chloral (Liviak *et al.*, 2010 cité dans NTP, 2015 et Rusyn *et al.*, 2014) mais pas sur cellules HepG2 (Zhang *et al.*, 2012 cité dans NTP, 2015) ni sur culture primaire d'hépatocytes de rats (Chang *et al.*, 1992 cité dans CIRC, 2014c). De même, aucun adduit à l'ADN ou aux protéines n'a été mesuré dans les noyaux d'hépatocytes de rats (Keller et Heck, 1988 cité dans NTP, 2015 et CIRC, 2014c). Enfin, des adduits ADN-malondialdéhyde ont été détectés par marquage au phosphore 32 dans l'ADN de thymus de veau incubé en présence de l'hydrate de chloral (Ni *et al.*, 1995 cité dans NTP, 2015).

Les résultats des études *in vivo* sont plus variables. Néanmoins, les réponses positives obtenues dans certains tests (micronoyaux, aberrations chromosomiques, aneuploïdie, cassures de l'ADN) laissent suggérer que l'hydrate de chloral est un agent génotoxique *in vivo*.

Ikbal *et al.* ont observé une augmentation statistiquement significative de la fréquence de micronoyaux et de SCE dans les lymphocytes du sang périphérique de nourrissons traités par voie orale à l'hydrate de chloral (utilisé comme sédatif avant un test d'audition) (Ikbal *et al.*, 2004 cité dans NTP 2015 ; CIRC, 2014c et Rusyn *et al.*, 2014). En revanche, les tests du micronoyau et d'aberrations chromosomiques *in vivo* réalisés chez le rongeur (sur spermatozoïdes, érythrocytes de la moelle osseuse et lymphocytes du sang périphérique) exposé à l'hydrate de chloral par voies intrapéritonéale et orale ont donné des résultats contradictoires (NTP, 2015 ; CIRC, 2014c).

Il est également difficile de conclure sur le mécanisme d'action aneugène de l'hydrate de chloral *in vivo* en raison de résultats opposés dans plusieurs études (NTP 2015 ; CIRC, 2014c).

La mesure des cassures simple-brin de l'ADN dans le foie de rongeurs traités à l'hydrate de chloral par voie orale a aussi donné des résultats divergents (Nelson et Bull, 1988 ; Chang *et al.*, 1992 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014c). Néanmoins, il a été démontré la formation de dommages oxydatifs de l'ADN (adduits ADN-malondialdéhyde et de 8-OHdG) dans le foie de souris nouveau-nées exposées à l'hydrate de chloral par voie intrapéritonéale (Von Tungeln *et al.*, 2002 cité dans NTP, 2015).

▪ Acide dichloroacétique (DCA)

L'activité mutagène et génotoxique du DCA a été étudiée dans différents tests *in vitro* et *in vivo* mais le nombre de tests pour chaque effet est limité (pour le détail de toutes les études réalisées, se rapporter à la monographie du CIRC, 2014d). En raison de la disparité des résultats expérimentaux, le CIRC a conclu que le DCA possède un potentiel génotoxique faible à modéré.

Dans la plupart des études, le DCA est mutagène sur bactéries *S. typhimurium* TA100 avec et sans activation métabolique (DeMarini *et al.*, 1994; Giller *et al.*, 1997; Kargalioglu *et al.*, 2002 cités dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014). Une étude a également montré un effet mutagène sur TA98, sans S9 uniquement (Kargalioglu *et al.*, 2002 cités dans NTP, 2015 et CIRC, 2014d). En revanche, des résultats négatifs ont été obtenus sur les autres souches bactériennes de *S. typhimurium* et *E. coli* WP2 *uvrA* (NTP, 2015 ; CIRC, 2014d).

En absence d'activation métabolique, une augmentation statistiquement significative de la fréquence de mutation au locus HPRT a été mise en évidence sur cellules CHO (Zhang *et al.*, 2010 cité dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014) et dose-dépendante sur cellules L5178Y (test MLA/tk) (Harrington-Brock *et al.*, 1998 cité dans NTP 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014). Ce dernier résultat n'a cependant pas été confirmé par Fox *et al.* (Fox *et al.*, 1996 cité dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014).

Une augmentation significative du nombre de micronoyaux a été observée dans un test réalisé sur lymphocytes humains du sang périphérique en culture (Varshney *et al.*, 2013 cité dans NTP, 2015) mais cet effet génotoxique n'a pas été retrouvé sur cellules L5178Y (Harrington-Brock *et al.*, 1998 cité dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014). Les résultats des deux tests *in vitro* d'aberrations chromosomiques réalisés sur cellules CHO et L5178Y ont aussi donné des résultats contradictoires (Harrington-Brock *et al.*, 1998 ; Fox *et al.*, 1996 cités dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014).

Zhang *et al.* ont rapporté une augmentation dose-dépendante de la formation de lésions primaires de l'ADN dans un test des comètes sur cellules HepG2 traitées au DCA pendant 4 heures (Zhang *et al.*, 2012 cité dans NTP, 2015). En revanche, cet effet génotoxique n'a pas été retrouvé dans plusieurs autres types cellulaires (culture primaire d'hépatocytes de rat ou de souris, cellules lymphoblastoïdes humaines CCRF-CEM et cellules CHO) (Chang *et al.*, 1992 ; Plewa *et al.*, 2002, 2010 cités dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014).

In vivo, les tests du micronoyau réalisés sur érythrocytes du sang périphérique ou de la moelle osseuse de souris B6C3F₁ et de rat Sprague-Dawley ont donné des résultats opposés (Fusco *et al.*, 1996 ; Fox *et al.*, 1996 cités dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014).

Le DCA administré *via* l'eau de boisson à des souris transgéniques Big Blue® induit la formation de mutations dont 33% de transitions GC-AT et 21% de transversions GC-TA (Leavitt *et al.*, 1997 cité dans NTP, 2015 ; CIRC, 2014d et Rusyn *et al.*, 2014).

Les études relatives à l'évaluation des cassures de l'ADN induites par le DCA *in vivo* chez le rongeur donnent des résultats contradictoires ne permettant donc pas de conclure.

- Voie du glutathion

S-(1,2-dichlorovinyl)-glutathion (DCVG), S-(1,2-dichlorovinyl)cystéine (DCVC) et N-acétyl-S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cystéine (NAcDCVC)

Il existe de nombreuses études et donc des preuves suffisantes de la génotoxicité de la DCVC *in vitro* et *in vivo* (particulièrement au niveau rénal). En revanche le DCVG et la NAcDCVC ont été assez peu étudiés (une seule étude a été conduite pour NAcDCVC). Les essais réalisés *in vitro* et *in vivo* couvrent l'ensemble des paramètres génotoxiques et mutagènes (mutations géniques, aberrations chromosomiques, altérations primaires de l'ADN, liaisons à l'ADN et aux protéines, perte d'hétérozygotie, transformation cellulaire) et sont majoritairement positifs (NTP, 2015).

La DCVC, et dans une moindre mesure le DCVG et la NAcDCVC, sont des agents mutagènes directs puisqu'ils induisent des mutations géniques sur bactéries *S. typhimurium* (TA2638, TA100 et TA98 pour la DCVC et uniquement TA2638 pour le DCVG et la NAcDCVC) en absence d'activation métabolique. La réponse est néanmoins amplifiée en présence de S9. Il a également été montré l'importance de la bioactivation par la bêta-lyase (Dekant *et al.* ; 1986c ; Vamvakas *et al.*, 1988a cités dans CIRC, 2014a ; NTP 2015 et Rusyn *et al.*, 2014 ; Irving et Elfarra, 2013 cité dans NTP, 2015 et Rusyn *et al.*, 2014).

Plusieurs études rapportent que la DCVC induit des lésions primaires de l'ADN *in vitro*, *in vivo* et *ex vivo* (ECHA, 2014 ; Jaffe *et al.*, 1985 ; Vamvakas *et al.*, 1989 cités dans CIRC 2014a et Rusyn *et al.*, 2014). L'effet génotoxique de la DCVC a d'ailleurs été confirmé dans un test des comètes *in vivo* sur foie de rats traités à dose unique par voie orale, 2 heures après le traitement (Clay, 2008 cité dans CIRC, 2014a ; NTP, 2015 et Rusyn *et al.*, 2014).

Par ailleurs, une étude réalisée *in vitro*, sans S9, sur fibroblastes d'embryons de hamster syrien (SHE) montre que la DCVC induit une synthèse non programmée de l'ADN (test UDS) mais n'induit pas la formation de micronoyaux (Vamvakas *et al.*, 1988b cités dans CIRC, 2014a et Rusyn *et al.*, 2014).

Une étude a montré que la DCVC induit l'expression du proto-oncogène *c-fos* (Vamvakas *et al.*, 1996 cité dans CIRC, 2014a). Récemment, De La Rosa *et al.* ont montré, *via* une approche génomique à haut débit effectuée sur la levure *Saccharomyces cerevisiae* et la lignée cellulaire de poulet DT40, que les dommages à l'ADN induits par la DCVC déclenchaient préférentiellement la réparation de l'ADN par recombinaison homologue *via* la voie de la « synthèse translésionnelle » (TLS). La TLS est connue pour être mutagène car elle consiste à ajouter des nucléotides, pas forcément les bons, à l'endroit où se situe la lésion du brin matriciel, et ceci pour permettre la poursuite de la réplication de l'ADN. Ce mécanisme mutagène pourrait être impliqué dans la cancérogenèse rénale. Les auteurs ont également mis en évidence des gènes cibles des dommages à l'ADN induits par les métabolites du TCE (notamment les gènes *RAD18*, *REV1*,

WRN, *REV3L* ...) et qui seraient de bons candidats pour une analyse génétique plus approfondie chez l'Homme (De La Rosa *et al.*, 2017).

3.5.5 Conclusion

○ Résumé des effets génotoxiques du TCE et de ses métabolites

La mutagénicité et la génotoxicité du TCE ont été évaluées à travers une **multitude d'études** réalisées *in vitro* (dans des systèmes eucaryotes et des cellules de mammifères) et *in vivo* (chez le rongeur et dans une moindre mesure chez l'Homme). Les différents systèmes d'essai utilisés ont permis de couvrir l'ensemble des endpoints génotoxiques (altérations primaires de l'ADN, mutations géniques, aberrations chromosomiques). **Les conditions expérimentales mises en œuvre sont souvent très hétérogènes**, notamment concernant la pureté du TCE souvent inconnue, les niveaux de doses trop toxiques, les temps d'exposition trop courts, les modes de traitement et/ou d'administration peu pertinents... La communauté scientifique reconnaît la **complexité des mécanismes d'action** impliqués dans la génotoxicité du TCE. De plus, le nombre important d'études réalisées donnent pour la plupart d'entre elles des **résultats contradictoires** (*i.e.* positifs et négatifs) compliquant d'autant plus la compréhension des effets. Néanmoins, l'ensemble des résultats suggère que **le TCE est un agent mutagène indirect** puisque les réponses positives observées *in vitro* et *in vivo* sont le plus souvent liées à la formation de **métabolites génotoxiques**. Par ailleurs, l'Homme est exposé principalement, voire exclusivement, à des préparations commerciales de TCE contenant des **stabilisants** à faible concentration (< 1%), principalement des époxydes (épichlorohydrine et 1,2-époxybutane). Ces composés sont connus pour être mutagènes ce qui rend difficile l'interprétation des résultats positifs. Ils pourraient être responsables de l'activité mutagène du TCE, ce qui a souvent, mais pas systématiquement, été rapporté.

In vitro, les études suggèrent que le TCE présente des **propriétés génotoxiques**. Il induit en particulier des cassures de brins de l'ADN et la formation de micronoyaux. Les tests de mutation génique réalisés sur des systèmes eucaryotes et sur des bactéries en présence d'activation métabolique mettent clairement en évidence le **potentiel mutagène indirect** du TCE (*i.e.* implication des métabolites du TCE). Les résultats positifs obtenus sur les souches de *S. typhimurium* TA100 et TA1535 suggèrent que le mécanisme d'action mutagène du TCE passe par la formation de substitutions de paires de bases.

In vivo, chez le rongeur, il existe dans l'ensemble des **preuves de la génotoxicité du TCE**. Il induit des dommages à l'ADN (cassures de brins et adduits) et la formation de micronoyaux par un mécanisme probablement aneugène. Certains de ces effets ont été observés dans le rein. Ces deux paramètres sont en accord avec les résultats obtenus *in vitro*. En revanche, les études *in vivo* relatives à l'évaluation des mutations géniques, des aberrations chromosomiques et des SCE se sont toutes révélées négatives.

Relativement peu d'études sur la génotoxicité du TCE ont été réalisées **chez l'Homme**. Les résultats ne permettent pas de conclure mais l'augmentation du nombre d'aberrations chromosomiques est néanmoins une **preuve suffisante pour soutenir qu'un effet génotoxique est possible**. Par ailleurs, plusieurs études ont évalué l'association entre l'exposition au TCE et la mutation du gène suppresseur de tumeur VHL conduisant au développement ultérieur de

carcinomes cellulaires rénaux chez des sujets fortement exposés. Ces études n'ont cependant pas été concluantes.

Bien que les **métabolites** de la voie du GSH soient minoritaires quantitativement comparés aux métabolites de la voie oxydative (TCA et TCOH notamment), ils n'en restent pas moins les plus importants d'un point de vue toxicologique. En effet, il existe des preuves suffisamment solides permettant de conclure que la **DCVC**, et dans une moindre mesure, le **DCVG** et la **NACDCVC**, sont **génétoxiques** sur la base de résultats cohérents dans plusieurs études. Pour les métabolites oxydatifs du TCE, les études sont moins nombreuses. En 2014, CIRC a conclu que **l'hydrate de chloral est un agent génétoxique avéré**, que le **DCA possède une activité génétoxique faible à modérée** et que le **TCA n'est pas génétoxique**. Le potentiel génétoxique du **TCOH a été assez peu étudié** et il est donc difficile de conclure.

3.6 Cancérogénicité

En 2012, le **CIRC** a classé le TCE dans le **groupe 1** (cancérogène pour l'Homme) grâce à des preuves épidémiologiques et soutenues par des données mécanistiques (CIRC, 2014a). Les études cas-témoins fournissent des preuves convaincantes d'une association entre l'exposition au TCE et le risque d'adénocarcinome rénal (Charbotel *et al.*, 2006 ; Moore *et al.*, 2010). Les études de cohorte, ainsi qu'une méta-analyse, ont rapporté une modeste augmentation du risque relatif de cancer rénal (Boice *et al.*, 2006 cité dans US EPA, 2011 ; Zhao *et al.*, 2005 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Scott et Jinot, 2011). Chez l'Homme, le niveau de preuve était limité pour l'association entre les lymphomes non-Hodgkiniens et le cancer hépatique et l'exposition au TCE. Le TCE est un cancérogène multi-site chez le rat et la souris exposés par voie orale et respiratoire : une augmentation des tumeurs du foie, des reins, des poumons, des testicules et du système hématopoiétique ont été observées dans plusieurs études.

En 2001, la **Commission Européenne** a classé le TCE dans le **groupe 2, devenu 1B selon le CLP**, pour les cancers du rein et les lymphomes non-Hodgkiniens en se basant sur des études mettant en évidence des cancers du rein chez le rat, soutenues par des études épidémiologiques montrant une association entre exposition au TCE et cancer du rein (Henschler *et al.*, 1995 ; Vamvakas *et al.*, 1998 ; Blair *et al.*, 1998) et les lymphomes non-Hodgkiniens (Axelson *et al.*, 1994 ; Anttila *et al.*, 1995 ; Blair *et al.*, 1998 ; Boice *et al.*, 1999).

Le TCE a été listé dans le 14^{ème} RoC (Report on Carcinogens) comme un cancérogène connu pour l'Homme sur la base d'études épidémiologiques montrant que le TCE entraîne des cancers rénaux, soutenus par des études toxicologiques, toxicocinétiques et mécanistiques. Les études épidémiologiques fournissent également des preuves limitées d'une association causale pour le lymphome non hodgkinien (LNH). Des études chez l'animal démontrent que le TCE est un cancérogène multi-site (NTP, 2015).

3.6.1 Chez l'Homme

De nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre l'exposition au TCE et la survenue de divers cancers. Le TCE serait principalement associé à la survenue de **cancers rénaux, hépato-biliaires** et des **lymphomes non-Hodgkinien (LNH)** (CE, 2004 ; NRC, 2006 ; IRSST, 2010 ; US EPA, 2011 ; ATSDR, 2014 ; CIRC, 2014a ; NTP, 2015).

Des excès de risques de cancer des poumons, du col de l'utérus et de l'œsophage ont également été observés dans quelques études. Cependant, selon le CIRC, ces études ne sont pas suffisantes pour réaliser une évaluation de ces cancers. Ainsi, seuls les cancers rénaux, hépatiques et les LNH sont développés ci-dessous.

3.6.1.1 Cancer rénal

Le risque de cancer rénal induit par le TCE a été étudié dans de nombreuses études épidémiologiques, aussi bien des études de cohorte, que des études cas-témoins et l'on dispose de plusieurs méta-analyses.

Une augmentation de l'incidence des cancers du rein a été observée dans plusieurs études épidémiologiques, aussi bien dans des études de cohorte en milieu professionnel (Sinks *et al.*, 1992 cité US EPA, 2011 et NRC, 2006 ; Henschler *et al.*, 1995 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Zhao *et al.*, 2005) (Tableau 16) que dans des études cas-témoins (Pesch *et al.*, 2000 ; Dosemeci *et al.*, 1999 cités dans NRC, 2006 et US EPA, 2011 ; Charbotel *et al.*, 2006 ; Brüning *et al.*, 2003 ; Vamvakas *et al.*, 1998 ; Moore *et al.*, 2010) (Tableau 17), en particulier en cas de forte exposition. Une plus grande susceptibilité au cancer rénal induit par le TCE a été observée chez les sujets portant un polymorphisme au niveau de gènes importants pour réduire le métabolisme du TCE, en particulier les sujets présentant au moins un allèle GSTT1 (glutathion-S-transférase thêta 1) intact (génotype actif) (Moore *et al.*, 2010).

Tableau 16 : Résultats des études de cohorte pour le cancer du rein (NRC, 2006 ; US EPA, 2011)

Référence	Population	Cas exposés	Risque relatif estimé (IC _{95%})
Incidence			
Buhagen <i>et al.</i> , 2016	Travailleurs salariés (ferrovière) exposés au TCE (n = 997 ♂), Norvège Exposition suivie sur 50 ans	13	SIR = 1,7 (1,0 – 3,0)
Hansen <i>et al.</i> , 2013 (cohorte regroupant Axelson <i>et al.</i> , 1994 ; Hansen <i>et al.</i> , 2001 ; Anttilla <i>et al.</i> , 1995)	Travailleurs (biomonitoring TCA urinaire) (n = 5 553), Finlande, Suède et Danemark <u>Hommes + femmes</u>	32	1,01 (0,7-1,42)
	<u>Hommes</u>	24	1,03 (0,66-1,53)
	<u>Femmes</u>	8	0,96 (0,41-1,88)
Sung <i>et al.</i> , 2008	Travailleurs (électronique) (n = 40 0647), Taiwan <u>Femmes</u>	15	1,10 (0,62-1,82)
Chang <i>et al.</i> , 2005	Travailleurs (électronique) (n= 86 868), Taiwan <u>Hommes</u>	8	1,06 (0,45-2,08)
	<u>Femmes</u>	12	1,09 (0,56-1,91)
Zhao <i>et al.</i> , 2005	Travailleurs (aéronautique) (n = 6 107 ♂), Californie <u>Score d'exposition cumulée (score d'exposition 0-3 x nombre d'années à ce poste)</u>		
	- Faible (0-3)	6	1
	- Moyen (>3-12)	6	1,87 (0,56-6,20)
	- Haut (>12)	4	4,90 (1,23-19,6)
	<u>Score d'exposition cumulée (fenêtre de 20 ans)</u>		
	- Faible (0-3)	6	1
- Moyen (>3-12)	7	1,19 (0,22-6,40)	
- Haut (>12)	3	7,40 (0,47-116)	
Raaschou-Nielsen <i>et al.</i> , 2003	Travailleurs (n = 40 049), Danemark <u>Hommes</u>	93	1,2 (0,97-1,48)
	<u>Femmes</u>	10	1,2 (0,55-2,11)

	<u>Durée d'exposition</u>		
	Hommes, < 1 an	14	0,8 (0,50-1,4)
	1-4,9 ans	25	1,2 (0,8-1,7)
	≥ 5 ans	29	1,6 (1,1-2,3)
	Femmes, < 1 an	2	1,1 (0,1-3,8)
	1-4,9 ans	3	1,2 (0,2-3,4)
	≥ 5 ans	3	1,5 (0,3-4,3)
Hansen <i>et al.</i> , 2001	Travailleurs (biomonitoring TCA urinaire) (n = 803), Danemark		
	<u>Hommes</u>	3	0,9 (0,2-2,6)
	<u>Femmes</u>	1	2,4 (0,03-14)
Blair <i>et al.</i> , 1998	Travailleurs (maintenance avion) (n = 14 457 dont 7 204 exposés au TCE), Utah (USA)		
	Total	15	1,6 (0,5-5,1)
	<u>Hommes exposition cumulée</u>		
	- Pas exposition	9	1,6 (0,5-5,4)
	- < 5 ppm-an	9	1,4 (0,4-4,7)
	- 5-25 ppm-an	5	1,3 (0,3-4,7)
	- >25 ppm-an	2	0,4 (0,1-2,3)
	- Faible exposition intermittente	2	2,1 (0,6-7,5)
	- Faible exposition continue	12	2,2 (0,6-8,1)
	<u>Femmes, exposition cumulée</u>		
	- Pas exposition		1,0
	- < 5 ppm-an	0	-
	- 5-25 ppm-an	0	-
	- >25 ppm-an	2	3,6 (0,5-25,6)
Anttila <i>et al.</i> , 1995	Travailleurs (biomonitoring : TCA urinaire) (n = 3 089), Finlande		
	Période entière depuis 1 ^{ère} mesure	6	0,87 (0,32-1,89)
	- 0-9 ans	1	0,53 (0,01-2,95)
	- 10-19 ans	5	1,39 (0,45-3,24)
	- > 20 ans	0	- (0,00-2,48)
Henschler <i>et al.</i> , 1995	Travailleurs masculins (cardboard manufacturers) employés ≥ 1 an (n = 169 exposés, 190 non exposés), Allemagne	5	7,97 (2,59-8,59)
Axelsson <i>et al.</i> , 1994	Travailleurs masculins (biomonitoring : TCA urinaire) (n = 1 421), Suède	6	1,16 (0,42-2,52)
Sinks <i>et al.</i> , 1992	Travailleurs (usines de cartons) (n = 2 050), USA SIR	6	3,7 (1,4-8,1)
Mortalité			
Bahr <i>et al.</i> , 2011	Travailleurs masculins (usine d'enrichissement de l'uranium) (n = 6 820), Kentucky (USA)	0	-
Clap et Hoffman, 2008	Travailleurs masculins (entreprise informatique) (n = 360), New-York (USA)	4	1,64 (0,45-4,21)
Radican <i>et al.</i> , 2008	Travailleurs (aéronautique) (n = 14 457 dont 7 204 jamais exposés au TCE), Utah (USA)		
	Subcohorte exposée au TCE	18	1,18 (0,47-2,94)
	<u>Hommes – expo cumulée</u>	16	1,24 (0,41-3,71)
	<5 ppm-an	10	1,87 (0,59-5,97)
	5-25 ppm-an	1	3,31 (0,03-2,75)
	>25 ppm-an	5	1,16 (0,31-4,32)
	<u>Femmes – expo cumulée</u>	2	0,93 (0,15-5,76)
	<5 ppm-an	0	
	5-25 ppm-an	1	2,86 (0,27-29,85)
	>25 ppm-an	1	0,97 (0,1-9,5)
Boice <i>et al.</i> , 2006	Travailleurs (aéronautique) (n = 8 372), Californie	7	2,22 (0,89-4,57)
Zhao <i>et al.</i> , 2005	Travailleurs (aéronautique) (n = 6 107 ♂), Californie		

	<u>Score d'exposition cumulée (score d'exposition 0-3 x nombre d'années à ce poste)</u> - Faible (0-3) - Moyen (>3-15) - Haut (>15) <u>Score d'exposition cumulée (fenêtre de 20 ans)</u> - Faible (0-3) - Moyen (>3-12) - Haut (>12)	7 7 3 10 6 1	1 1,43 (0,49-4,16) 2,03 (0,50-8,32) 1,00 1,69 (0,29-9,70) 1,82 (0,09-38,6)
Chang <i>et al.</i> 2003	Travailleurs (électronique) (n= 86 868), Taiwan (cancer rein et autres organes urinaires) Hommes Femmes Durée d'emploi hommes et femmes - < 1 an - 1-5 ans	0 3 1 2	0 (0,00-2,82) 1,18 (0,24-3,44) 0,62 (0,02-3,46) 3,08 (0,37-11,11)
Boice <i>et al.</i> , 1999	Travailleurs (fabrication aéronautique) (n = 77 965), Californie (USA) Travailleurs de l'usine Exposition de « routine » <u>Durée d'exposition au TCE</u> - 0 - < 1 ans - 1-4 ans - ≥ 5 ans	75 7 22 6 1 4	0,86 0,99 (0,40-2,04) 1 0,97 (0,37-2,50) 0,19 (0,02-1,42) 0,69 (0,32-2,12)
Ritz, 1999	Travailleurs masculins (uranium) (n = 3 814 dont 2 971 potentiellement exposés au TCE), USA : mortalité Cohorte totale <u>Vessie et reins combinés, nombre d'années d'exposition au :</u> • niveau 1 de TCE < 2 ans 2-10 ans ≥ 10 ans • niveau 2 de TCE < 2 ans 2-10 ans ≥ 10 ans	8 6 5 2 13 0 0	1,17 (0,50-2,31) 1 1,94 (0,59-6,44) 0,76 (0,14-400) 1 0 0
Blair <i>et al.</i> , 1998	Travailleurs (maintenance avion) (n = 14 457), Utah (USA) <u>Hommes, exposition cumulée</u> - Pas d'exposition - < 5 ans - 5-25 ans - 25 ans - Pics fréquents <u>Femmes, exposition cumulée</u> - < 5 ans - 5-25 ans - > 25 ans	10 8 1 4 5 0 1 1	2,25 (0,7-8,9) 2,0 (0,5-7,6) 0,4 (0,3-5,7) 1,2 (0,3-5,7) 1,4 (0,3-5,7) 9,8 (0,6-157) 3,5 (0,2-56,4)
Morgan <i>et al.</i> , 1998	Travailleurs (aéronautique) (n = 20 508), Arizona (USA) <u>Sub-cohorte exposée au TCE</u> - Exposition - Faible exposition - Forte exposition <u>Pic (référence : pas/faible exposition)</u> - Moyen/fort	8 1 7 8	1,32 (0,57-2,60) 0,47 (0,01-2,62) 1,78 (0,72-3,66) 1,89 (0,05-4,3)

	- Exposition cumulée (faible)	1	0,31 (0,04-2,36)
	- Exposition cumulée (forte)	7	1,59 (0,68-3,71)
Henschler <i>et al.</i> , 1995	Travailleurs masculins (cardboard manufacturers) employés depuis au moins 1 an (n = 169 exposés, 190 non exposés), Allemagne	2	3,28 (0,40-11,84)
Greenland <i>et al.</i> , 1994	Travailleurs masculins blancs (usine de transformateurs), toujours exposés (n = 512 cas, 1 202 témoins), Massachusetts (USA)	12	0,99 (0,30-3,32)
Sinks <i>et al.</i> , 1992	Travailleurs (cardboard manufacturers) (n = 2 050), USA SMR	1	1,4 (0,0-7,7)
Garabrant <i>et al.</i> , 1988	Travailleurs (maintenance avion) (n = 14 067), San Diego (USA), 37% des emplois exposés au TCE	12	0,93 (0,48-1,64)

Tableau 17 : Résultats des études cas-témoins pour le cancer du rein (NRC, 2006 ; US EPA, 2011 ; CIRC, 2014a ; Purdue *et al.*, 2017)

Référence	Population	Cas exposés	Risque relatif estimé (IC _{95%})
Purdue <i>et al.</i> , 2017	Population du Michigan 1217 cas/1 235 témoins <u>Exposition au TCE (questionnaire et avis d'expert)</u>	658	
	Non exposé	521	1
	Faible probabilité d'exposition au TCE (<50%)	608	OR = 1,2 (0,9-1,4)
	Probabilité d'exposition au TCE 50-89%	18	OR = 0,8 (0,4 – 1,6)
	Forte probabilité d'exposition au TCE (≥90%)	32	OR = 0,8 (0,4 – 1,5)
	<u>Durée d'exposition (parmi les fortes intensités d'exposition)</u>		
	tertile 1	9	OR = 1,3 (0,6 – 1,1)
	tertile 2	5	OR = 0,6 (0,2 – 2,2)
	tertile 3	11	OR = 1,1 (0,5 – 2,4)
	<u>Durée hebdomadaire d'exposition (parmi les fortes intensités d'exposition)</u>		
	<1h	5	OR = 0,6 (0,2 – 1,9)
	1 – 6h	11	OR = 1,0 (0,4 – 2,3)
	>6h	9	OR = 2,0 (0,5 – 7,4)
	<u>Nombre d'heures cumulées d'exposition (parmi les fortes intensités d'exposition)</u>		
tertile 1	4	OR = 0,8 (0,2 – 3,5)	
tertile 2	3	OR = 0,3 (0,1 – 1,3)	
tertile 3	18	OR = 1,7 (0,8 – 3,8)	
Vlaanderen <i>et al.</i> , 2013	Travailleurs, pays nordiques (Danemark, Finlande, Islande, Norvège et Suède) 76 130 cas/380 650 témoins Exposition au TCE (estimation quantitative par matrice emploi exposition développée par le Nordic occupational Cancer)		
	<u>Exposition cumulée</u>		
	Tertile 1	1 217	HR = 1,01 (0,95-1,07)
	Tertile 2	1 556	HR = 1,02 (0,97-1,08)
	Tertile 3	1 372	HR = 1,00 (0,95-1,07)
	<u>Exposition cumulée - Hommes</u>		
	Tertile 1	978	HR = 0,99 (0,93-1,07)
	Tertile 2	1 282	HR = 1,00 (0,94-1,07)
	Tertile 3	1 234	HR = 1,03 (0,97-1,1)
	<u>Exposition cumulée – Femmes</u>		
	Tertile 1	239	HR = 1,07 (0,93-1,23)
	Tertile 2	274	HR = 1,12 (0,98-1,28)
	Tertile 3	138	HR = 0,83 (0,69-0,99)
	<u>Plus forte exposition cumulée</u>		
Hommes	251	HR = 0,86 (0,75-0,98)	
Femmes	159	HR = 0,92 (0,77-1,09)	
	92	HR = 0,92 (0,77-1,09)	

Christensen <i>et al.</i> , 2013	Population à Montréal, Canada (1979-85) 177 cas / 2 532 témoins		
	Exposition au TCE (questionnaire professionnel + évaluation expert) Exposition importante	5 2	0,9 (0,4-2,4) 0,6 (0,1-2,8)
Moore <i>et al.</i> , 2010	Population en Europe centrale et orientale (1999-2003) 1 097 cas/1 476 témoins		
	Pas d'exposition	777	1,00
	Exposition totale (questionnaire + matrice emploi-exposition)	29	2,05 (1,13-3,73)
	- < exposition médiane d'intensité moyenne	31	1,73 (0,75-4,02)
	- > exposition médiane d'intensité moyenne	16	2,41 (1,05-5,56)
	<u>Parmi les sujets présentant au moins un allèle GSTT1 intact (génotype actif)</u>		
	- exposition totale	32	1,88 (1,06-3,33)
	- < exposition médiane d'intensité moyenne	20	1,56 (0,79-3,1)
	- > exposition médiane d'intensité moyenne	12	2,77 (1,01-7,58)
	<u>Parmi les sujets avec les 2 allèles mutés (génotype nul)</u>		
- exposition totale	10	0,93 (0,35-2,44)	
- < exposition médiane d'intensité moyenne	6	0,81 (0,24-2,72)	
- > exposition médiane d'intensité moyenne	4	1,16 (0,27-5,04)	
Charbotel <i>et al.</i> , 2006, 2007, 2009 Fevotte <i>et al.</i> , 2006	Population de la vallée de l'Arve, France (1993-2003) 87 cas / 316 témoins	37	1,64 (0,95-2,84)
	Exposition au TCE (matrice emploi-exposition)	16	1,88 (0,89-3,98)
	Exposition au TCE (haute confiance dans exposition)	49	1,00
	<u>Exposition cumulée - Non exposé</u>	12	1,62 (0,75-3,47)
	- Faible	9	1,15 (0,47-2,77)
	- Moyen	16	2,16 (1,02-4,60)
	- Fort		
	<u>Exposition cumulée + pic -Non exposé</u>	49	1,00
	- Faible/moyen, sans pic	18	1,35 (0,69-2,63)
	- Faible/moyen, avec pic	3	1,61 (0,36-7,30)
	- Fort, sans pic	8	1,76 (0,65-4,73)
	- Fort, avec pic	8	2,73 (1,06-7,07)
	<u>Exposition au TCE au cours d'au moins un épisode professionnel</u>		
	- Non exposé	46	1,00
	- Huiles de coupe sans TCE	15	1,62 (0,76-3,44)
- < 50 ppm TCE+ huiles de coupe	3	2,39 (0,52-11,03)	
- >50 ppm TCE + huiles de coupe	12	1,14 (0,49-2,66)	
	10	2,70 (1,02-7,17)	
Brüning <i>et al.</i> , 2003	Population d'Arnberg, Allemagne (1999-2000) 134 cas / 401 témoins		
	<u>Exposition au TCE (auto-évaluée)</u>	25	2,47 (1,36-4,49)
	<u>Durée exposition au TCE - 0</u>	109	1,00
	- < 10 ans	11	3,78 (1,54-9,28)
	- 10 - <20 ans	7	1,80 (0,67-4,79)
- ≥ 20 ans	6	2,69 (0,84-8,66)	
Pesch <i>et al.</i> , 2000	Population de 5 régions allemandes (1991-96) 570 ♂ + 365 ♀ cas / 2 650 ♂ + 1 648 ♀ témoins		
	<u>Exposition au TCE (questionnaire professionnel + matrice emploi-exposition)</u>		1,00
	Hommes – pas exposition		
	- moyen	68	1,3 (1,0-1,8)
	- Haut	59	1,1 (0,8-1,5)
	- Très important	22	1,3 (0,8-2,1)
	Femmes – pas exposition		1,00
	- moyen	11	1,3 (0,7-2,6)
	- Haut	7	0,8 (0,4-1,9)
	- Très important	5	1,8 (0,6-5,0)
Dosemeci <i>et al.</i> , 1999	Population du Minnesota, USA (1988-90) Exposition : questionnaire + matrice emploi-exposition 273 ♂ + 165 ♀ cas / 462 ♂ + 225 ♀ témoins		
	<u>Hommes+Femmes</u>	55	1,3 (0,9-1,9)
	<u>Hommes</u>	33	1,04 (0,6-1,7)
	<u>Femmes</u>	22	1,96 (1,0-4,0)
Vamvakas <i>et al.</i> , 1998	Population d'Arnsberg, Allemagne (1987-93) 58 cas/84 témoins	39	1,00

	Pas exposition	19	10,80 (3,36-34,75)
	Exposition au TCE (interview + score)	2	6,61 (0,5-87,76)
	- Faible	9	11,92 (2,55-55,60)
	- Moyen	8	11,42 (1,96-66,79)
	- Fort		
Siemietycki <i>et al.</i> , 1991	Population de Montréal (homme, cancer du rein), exposition évaluée par des experts selon la description de postes		
Parent <i>et al.</i> , 2000	Exposition au TCE	4	0,8 (0,4-2,0)
	Exposition importante au TCE	2	0,8 (0,2-2,6)

Selon le CIRC, les études cas-témoins fournissent des preuves plus solides et plus cohérentes d'une association positive entre le cancer du rein et l'exposition au TCE que les études de cohorte. Les évaluations de l'exposition les plus détaillées ont été réalisées pour deux études, une en France (Charbotel *et al.*, 2006) et une en Europe de l'Est (Moore *et al.*, 2010). Ces deux études ont évalué les facteurs de confusion pour plusieurs facteurs de risque de cancer du rein et ont fourni des preuves d'une relation d'exposition-réponse. L'étude en France a été menée dans une zone à forte prévalence d'exposition professionnelle au TCE et a évalué les effets potentiellement confondants de l'exposition aux huiles de coupe. Ces analyses ont révélé un OR non significatif de 1,62 (IC_{95%} = 0,76-3,44) pour l'association avec le TCE chez les travailleurs non exposés aux huiles de coupe, et un OR statistiquement significatif de 2,70 (IC_{95%} = 1,02-7,17) chez les travailleurs de la catégorie d'exposition la plus élevée au TCE également exposés aux huiles de coupe. L'étude en Europe de l'Est était plus importante que l'étude en France, mais la prévalence de l'exposition au TCE était plus faible. Le RR était de 2,05 (IC_{95%} = 1,13-3,73) pour toute exposition au TCE et de 2,41 (IC_{95%} = 1,05-5,56) pour les sujets les plus exposés.

En 2000, Wartenberg *et al.* ont réalisé une revue de 80 articles et lettres sur l'épidémiologie du cancer chez des personnes exposées au TCE. Un excès d'incidence des cancers dans les cohortes en milieu professionnel dans lesquelles l'exposition est la mieux évaluée⁵, a été mis en évidence pour le cancer du rein (RR = 1,7 ; IC_{95%} = 1,1-2,7). Cependant, la plupart des études n'ont pas évalué l'exposition au TCE de manière isolée ce qui entraîne une confusion avec l'exposition aux autres solvants connus pour induire des cancers chez l'Homme (Wartenberg *et al.*, 2000).

Kelsh *et al.* (2010) a réalisé une méta-analyse à partir de 23 études épidémiologiques réalisées chez des travailleurs exposés au TCE (études de cohortes et cas-témoins) étudiant le lien entre l'exposition professionnelle au TCE et le cancer rénal. Les études de cohortes ont été classées en 2 groupes selon la qualité du design des études et l'évaluation de l'exposition : le groupe 1 regroupant 10 études⁶ identifiant le TCE comme une source d'exposition professionnelle (biomonitoring, données d'hygiène industrielle, pratiques de travail, catégories d'emploi impliquant le TCE) et le groupe 2, 7 études⁷ pour lesquelles l'exposition du TCE n'est pas documentée. Les auteurs rapportent un RR de 1,3 (IC_{95%} = 1,04- 1,61) pour toutes les études (forte hétérogénéité p<0,001), de 1,34 (IC_{95%} = 1,07- 1,67) pour les études de cohorte classées dans le groupe 1 et de

⁵ Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Blair *et al.*, 1998 ; Henschler *et al.*, 1995

⁶ Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Blair *et al.*, 1998 ; Boice *et al.*, 1999 et 2006 ; Hansen *et al.*, 2001 ; Morgan *et al.*, 1998 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003

⁷ Blair *et al.*, 1998 ; Chang *et al.*, 2003 ; Costa *et al.*, 1989 ; Garabrant *et al.*, 1988 ; Selden et Ahlborg, 1991

0,88 (IC_{95%} = 0,8-1,33) pour les études de cohorte classées en groupe 2. Un RR de 1,33 (IC_{95%} = 1,02-1,73) a été reporté pour les cancers rénaux à partir d'une méta-analyse de 5 études cas-témoins⁸ (Tableau 18). Cette méta-analyse confirme l'existence d'un excès de risque de cancer du rein dans plusieurs études, tout en soulignant l'impact de facteurs d'hétérogénéité sur les résultats, notamment la non prise en compte des facteurs de confusion, l'absence d'évaluation quantitative des expositions ou l'absence de relation exposition/réponse.

Tableau 18 : Résumé des résultats de la méta-analyse réalisée par Kelsh *et al.* (2010)

Studies/Study Groups Included in Analysis	No. Studies	SRRE (95% CI)	Test for Heterogeneity P
All studies			
All studies: total cohort data	23	1.30 (1.04–1.61)	<0.001
All studies: subcohort data from group I studies ^a	23	1.42 (1.13–1.77)	0.001
All studies ^a : data from outlier studies removed ^b	20	1.24 (1.06–1.45)	0.616
Cohort studies			
Group I cohort studies: subcohort data ^c	8	1.34 (1.07–1.67)	0.854
Group II cohort studies	7	1.58 (0.75–3.32)	<0.0001
Group II studies: data from outlier studies removed ^d	5	0.88 (0.58–1.33)	0.985
Cohort studies—cancer incidence findings summarized			
All cohort studies ^a	16	1.34 (1.00–1.81)	0.011
All cohort studies ^a : data from outlier studies removed ^d	14	1.19 (0.98–1.44)	0.826
Group I and group II cohort studies ^a : aircraft/aerospace worker cohorts	7	1.14 (0.84–1.57)	0.588
Group I cohort studies ^a : aircraft/aerospace worker cohorts (note: mortality studies conducted in the United States)	4	1.44 (0.94–2.21)	0.579
Group I cohort studies ^a : worker from various industries (note: incidence studies conducted in Europe)	4	1.31 (1.01–1.69)	0.754
Group I cohort studies: workers biomonitoring for TCE exposure (all conducted in Europe)	3	1.02 (0.59–1.77)	0.899
Case control studies			
All case-control studies	7	1.57 (1.06–2.30)	0.003
Case-control studies: data from outlier studies removed ^e	6	1.33 (1.02–1.73)	0.143
Exposure response			
Duration of exposure/employment: shortest	7	1.50 (0.96–2.36)	0.272
Duration of exposure/employment: longest	7	1.24 (0.69–2.23)	0.085
Cumulative exposure: low	3	1.29 (0.68–2.47)	0.330
Cumulative exposure: high	3	1.39 (0.75–2.59)	0.331

^aTCE-exposed subcohort data used for the group I cohort studies.

^bVamvakas *et al.*³⁶, Henschler *et al.*⁵² and Sinks *et al.*⁴⁷ removed.

^cRitz⁴⁴ included in the group I total cohort analysis but not the subcohort analysis, as these data were not reported.

^dHenschler *et al.*⁵² and Sinks *et al.*⁴⁷ removed.

^eVamvakas *et al.*³⁶ removed.

SRRE indicates summary relative risk estimate.

En 2011, Scott et Jinot ont réalisé une méta-analyse fondée sur 24 études de cohorte ou cas-témoins, par voie orale et inhalée étudiant le lien potentiel entre exposition au TCE et cancer du rein, du LNH et du foie et des voies biliaires (US EPA, 2011 ; Scott et Jinot, 2011). Ils ont calculé le RR de cancer du rein sur la base d'une extraction des 15 études appropriées (études de cohorte avec groupe contrôle ou études cas-témoins)⁹ et ont mis en œuvre des méthodes statistiques de modélisation d'hétérogénéité en utilisant des modèles à effets aléatoires et à effets fixes, pour évaluer notamment l'impact des biais de sélection ou des erreurs de classement entre

⁸ Charbotel *et al.*, 2006 ; Dosemeci *et al.*, 1999 ; Greenland *et al.*, 1994 ; Pesch *et al.*, 2000 ; Siemiatycki, 1991

⁹ Moore *et al.*, 2010; Charbotel *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2005; Brüning *et al.*, 2003; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003; Hansen *et al.*, 2001; Pesch *et al.*, 2000b; Boice *et al.*, 1999; Dosemeci *et al.*, 1999; Blair *et al.*, 1998; Morgan *et al.*, 1998; Anttila *et al.*, 1995; Axelson *et al.*, 1994; Greenland *et al.*, 1994; Siemiatycki, 1991

les différentes études. Les analyses ainsi réalisées fournissent des résultats convergents, avec un risque relatif de 1,16 (IC_{95%} = 0,96-1,40) pour les études de cohorte, de 1,48 (IC_{95%} = 1,15-1,91) pour les études cas-témoins et de 1,27 (IC_{95%} = 1,13-1,43) pour l'ensemble des 15 études. Pour l'ensemble des études fondées sur les groupes d'exposition, le RR pour les groupes d'exposition la plus élevée était de 1,58 (IC_{95%} = 1,28-1,96), et de 1,64 (IC_{95%} = 1,31-2,04) pour les 10 études rapportant des résultats en fonction du niveau d'exposition. Ces résultats, pour lesquels l'hétérogénéité est considérée comme faible d'après les tests pratiqués, constituent selon les auteurs une preuve solide du lien entre exposition au TCE et risque de développer un cancer du rein.

Karami *et al.* ont également réalisé une méta-analyse à partir d'études parues entre 1950 et 2011, ayant étudié le lien éventuel entre le cancer du rein et l'exposition aux solvants chlorés et notamment au TCE. Après suppression des études jugées aberrantes, les auteurs se sont basés sur 15 études de cohorte¹⁰ et 13 études cas-témoins¹¹ réalisées en milieu professionnel et ayant étudié le lien entre exposition au TCE et cancer rénal. Une association positive entre l'exposition au TCE et le cancer rénal a été observée pour les études de cohorte (RR = 1,26 ; IC_{95%} = 1,02-1,56), les études cas-témoins (OR = 1,35 ; IC_{95%} = 1,17-1,57) et pour l'ensemble des études (RR = 1,32 ; IC_{95%} = 1,17-1,5) qui ont évalué spécifiquement l'exposition au TCE, en éliminant les études avec des résultats aberrants (Henschler *et al.*, 1995 ; Vamvakas *et al.*, 1998). Selon les auteurs, cet excès de risque n'était retrouvé que pour les études ayant spécifiquement pris en compte l'exposition au TCE, mais pas pour les études globales sur les solvants chlorés (Karami *et al.*, 2012).

3.6.1.2 Cancers hépatiques et des voies biliaires

Les informations disponibles sur l'association entre les cancers du foie et des voies biliaires et l'exposition au TCE sont limitées à des études de cohorte (Tableau 19), un faible nombre d'études cas-témoins et de méta-analyses.

Seules 4 études de cohorte ont mis en évidence un excès de risque de cancers hépatiques et des voies biliaires ou de cancers hépatiques au stade primaire (Hansen *et al.*, 2013 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Anttila *et al.*, 1995 ; Ritz, 1999) (Tableau 19).

L'association entre cancer du foie et exposition professionnelle au TCE a été étudiée dans 4 études cas-témoins : Novotna *et al.* (1979), Paddle (1983), Christensen *et al.* (2013) et Vlaanderen *et al.* (2013). Aucune relation statistiquement significative n'a pu être identifiée dans les études de Novotna *et al.* (Prague, entre 1972 et 1974), et Paddle (ouvriers d'une usine de production de TCE employés entre 1951 et 1976) (CE, 2004). Cependant, les niveaux d'exposition n'étaient pas fiables et le nombre de sujets trop faible pour pouvoir affirmer l'absence d'association pour ces

¹⁰ Etudes de cohortes - exposition TCE : Axelson *et al.*, 1994 ; Anttila *et al.*, 1995 ; Henschler *et al.*, 1995 ; Morgan *et al.*, 1998 ; Ritz, 1999 ; Hansen *et al.*, 2001 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Boice *et al.*, 2006 ; Radican *et al.*, 2008 ; Lipworth *et al.*, 2011 ; études de cohortes –exposition aux solvants chlorés : Garabrant *et al.*, 1988 ; Selden et Ahlborg, 1991 ; Sinks *et al.*, 1992 ; McLean *et al.*, 2006 ; Sung *et al.*, 2007

¹¹ Etudes cas-témoins - exposition TCE : Asal *et al.*, 1998 ; Harrington *et al.*, 1989 ; Greenland *et al.*, 1994 ; Vamvakas *et al.*, 1998 ; Dosemeci *et al.*, 1999 ; Pesch *et al.*, 2000 ; Brüning *et al.*, 2003 ; Charbotel *et al.*, 2006 ; Moore *et al.*, 2011 ; Etudes cas-témoins – exposition aux solvants chlorés : Partanen *et al.*, 1991 ; Poole *et al.*, 1993 ; Schlehofer *et al.*, 1995

deux études. Christensen *et al.* ont calculé un OR de 1,1 (IC_{95%} = 0,1-8,5 ; 1 cas exposé sur 33 cas étudiés) pour tous les niveaux d'exposition au TCE et de 2,1 (IC_{95%} = 0,2-18 ; 1 cas exposé) pour de fortes expositions (CIRC, 2014a). Vlanderén *et al.* n'ont pas mis en évidence d'association entre le cancer hépatique (340 cas exposés sur 23 896 étudiés) et l'exposition professionnelle au TCE dans plusieurs pays nordiques (tertile 1 : HR = 1,03 ; IC_{95%} = 0,91-1,16 ; tertile 2 : HR = 0,99 ; IC_{95%} = 0,9-1,09 ; Tertile 3 : HR = 1 ; IC_{95%} = 0,9-1,11) (Vlaanderen *et al.*, 2013).

Une méta-analyse portant sur le cancer du rein, le LNH et les cancers du foie et des voies biliaires a été réalisée à partir de 24 études de cohorte ou cas-témoins, par voie orale et inhalée (US EPA, 2011 ; Scott et Jinot, 2011). Concernant l'association entre les cancers du foie, de la vésicule et des voies biliaires et l'exposition au TCE, le RR combiné estimé à partir de 9 études de cohorte¹² est de 1,29 (IC_{95%} = 1,07-1,56). La méta-analyse sur le cancer du foie (uniquement) concernant les groupes soumis à l'exposition la plus élevée pour six études a proposé une estimation du RR de 1,32 (IC_{95%} = 0,93-1,86). De plus, Wartenberg *et al.* ont réalisé une revue de 80 articles et lettres sur l'épidémiologie du cancer chez des personnes exposées au TCE. Un excès d'incidence des cancers dans les cohortes en milieu professionnel dans lesquelles l'exposition est la mieux évaluée¹³, a été mis en évidence pour le cancer du foie (RR = 1,9 ; IC_{95%} = 1,0-3,4). Cependant, la plupart des études n'ont pas évalué l'exposition au TCE de manière isolée ce qui entraîne une confusion avec l'exposition aux autres solvants connus pour induire des cancers chez l'Homme (Wartenberg *et al.*, 2000). A l'inverse, Alexander *et al.* (2007) ont analysé des études en population professionnelle sur l'association entre exposition au TCE et cancers hépatiques et des voies biliaires (14 études de cohorte et 1 étude cas témoins¹⁴) et ont conclu que les données épidémiologiques disponibles ne permettaient pas de soutenir une association entre exposition professionnelle au TCE et cancers du foie et des voies biliaires (SRRE = 1,81 ; IC_{95%} = 0,91-1,29) (Alexander *et al.*, 2007). Ces résultats contradictoires pourraient résulter de la prise en compte, au titre de ce nœud de classification des maladies, de tumeurs n'ayant en commun que leur localisation hépatique, mais de type histologiques et physiopathologiques différents.

¹² Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Boice *et al.*, 1999 et 2006 ; Greenland *et al.*, 1994 ; Hansen *et al.*, 2001 ; Morgan *et al.*, 1998 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Radican *et al.*, 2008

¹³ Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Blair *et al.*, 1998 ; Henschler *et al.*, 1995

¹⁴ Etudes de cohorte groupe 1 : Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Hansen *et al.*, 2001 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Blair *et al.*, 1998 ; Boice *et al.*, 1999 et 2006 ; Morgan *et al.*, 1998 ; Ritz *et al.*, 1999 ; Groupe 2 : Blair *et al.*, 1989 ; Chang *et al.*, 2003 ; Costa *et al.*, 1989 ; Garabrant *et al.*, 1988 ; Selden et Ahlborg, 1991, études cas témoins : Greenland *et al.*, 1994

Tableau 19 : Résultats des études de cohorte pour les cancers du foie et des voies biliaires (NRC, 2006 ; US EPA, 2011)

Référence	Population	Cas exposés	Risque relatif estimé (IC _{95%})
Études de cohorte – Incidence			
Hansen <i>et al.</i> , 2013 (cohorte regroupant Axelson <i>et al.</i> , 1994 ; Hansen <i>et al.</i> , 2001 ; Anttilla <i>et al.</i> , 1995)	Travailleurs (biomonitoring TCA urinaire) (n = 5 553), Finlande, Suède et Danemark		
	Cancers hépatiques et voies biliaires		
	- Hommes + femmes	36	1,77 (1,24-2,45)
	o Temps de latence 10 ans	32	1,83 (1,24-2,56)
	o Temps de latence 20 ans	24	2,09 (1,34-3,11)
	- Hommes	25	1,9 (1,23-2,81)
	- Femmes	11	1,54 (0,77-2,76)
Cancers hépatiques primitifs			
- Hommes + femmes	21	1,93 (1,19-2,95)	
- Hommes	16	1,92 (1,1-3,12)	
- Femmes	5	1,9 (0,63-4,56)	
Raaschou-Nielsen <i>et al.</i> , 2003	Travailleurs (n = 40 049), Danemark		
	Cancers hépatiques primitifs		
	<u>Hommes</u>		
	- Tous les travailleurs exposés	27	1,1 (0,7-1,6)
	- <1 an ancienneté	9	1,3 (0,6-2,5)
	- 1-4,9 ans ancienneté	9	1,0 (0,5-1,9)
	- ≥5 ans ancienneté	9	1,1 (0,5-2,1)
	<u>Femmes</u>		
	- Tous les travailleurs exposés	7	2,8 (1,1-5,8)
	- <1 an ancienneté	2	2,8 (0,3-10,0)
	- 1-4,9 ans ancienneté	4	4,1 (1,1-10,5)
	- ≥5 ans ancienneté	1	1,3 (0,0-7,1)
	Cancer hépatique et des voies biliaires		
	<u>Hommes + femmes</u>	57	1,4 (1,0-1,8)
	<u>Hommes</u>		
	- Tous les travailleurs exposés	41	1,1 (0,8-1,5)
	- <1 an ancienneté	13	1,2 (0,7-2,1)
- 1-4,9 ans ancienneté	13	0,9 (0,5-1,6)	
- ≥5 ans ancienneté	15	1,1 (0,6-1,7)	
<u>Femmes</u>			
- Tous les travailleurs exposés	16	2,8 (1,6-4,6)	
- <1 an ancienneté	4	2,5 (0,7-6,5)	
- 1-4,9 ans ancienneté	10	4,5 (2,2-8,3)	
- ≥5 ans ancienneté	2	1,1 (0,1-3,8)	
Hansen <i>et al.</i> , 2001	Travailleurs (biomonitoring TCE urinaire) (n = 803), Danemark		
	Cancer hépatique et des voies biliaires		
	- Hommes+Femmes	5	2,1 (0,7-5,0)
	- Hommes	5	2,6 (0,8-6,0)
	- Femmes	0	-
	Cancers hépatiques primaires		
	- Hommes+Femmes	2	1,7 (0,2-6,0)
- Hommes	2	1,8 (0,2-6,6)	
- Femmes	0	-	
Blair <i>et al.</i> , 1998 Stewart <i>et al.</i> , 1991	Travailleurs (maintenance aéronautique) (n = 14 457 dont 7 204 exposés au TCE), Utah (USA)		
	Cancers hépatiques primitifs		
	<u>Hommes</u>		
	- Pas d'exposition	1	0,8 (0,1-12,0)
	- < 5 ans	2	1,2 (0,1-13,8)
	- 5-25 ans	1	1,0 (0,1-16,0)
	- ≥ 25 ans	3	2,6 (0,3-25,0)
	Cancer hépatique et des voies biliaires		
	<u>Hommes</u>		
	- Pas d'exposition	1	0,2 (0,1-2,4)
	- < 5 ans	3	0,6 (0,1-3,1)
- 5-25 ans	2	0,6 (0,1-3,8)	
- ≥ 25 ans	4	1,1 (0,2-4,8)	

Anttila <i>et al.</i> , 1995	Travailleurs (biomonitoring : TCA urinaire) (n = 3 089), Finlande Cancers hépatiques primitifs - Période depuis la 1 ^{ère} mesure - 0-9 ans - 10-19 ans - ≥ 20 ans <u>Niveau urinaire moyen de TCA</u> - < 100 µmol/L - ≥ 100 µmol/L Cancer hépatique et des voies biliaires Période depuis la 1 ^{ère} mesure	5 0 2 3 2 2 9	2,27 (0,74-5,29) - (0,0-6,59) 1,74 (0,21-6,29) 6,07 (1,25-17,7) 1,64 (0,20-5,92) 2,74 (0,33-9,88) 1,89 (0,86-3,59)
Axelsson <i>et al.</i> , 1994	Travailleurs mâles (biomonitoring : TCA urinaire) (n = 1 421), Suède Cancers hépatiques primitifs	4	1,41 (0,38-3)
Étude de cohorte – Mortalité			
Bahr <i>et al.</i> , 2011	Travailleurs mâles (usine d'enrichissement de l'uranium) (n = 6 820), Kentucky (USA)	ND	0,43 (0,1-1,84)
Radican <i>et al.</i> , 2008	Travailleurs (aéronautique) (n = 14 457 dont 7 204 jamais exposés au TCE), Utah (USA) Cancer hépatique et des voies biliaires Subcohorte expo TCE <u>Hommes – expo cumulée</u> - <5 ppm-an - 5-25 ppm-an - >25 ppm-an <u>Femmes – expo cumulée</u> - <5 ppm-an - 5-25 ppm-an - >25 ppm-an Cancer hépatique primitif Subcohorte expo TCE <u>Hommes – expo cumulée</u> - <5 ppm-an - 5-25 ppm-an - >25 ppm-an	31 28 10 6 12 3 1 0 2 8 8 4 0 4	1,12 (0,57-2,19) 1,36 (0,59-3,11) 1,17 (0,45-3,09) 1,16 (0,39-3,46) 1,72 (0,68-4,38) 0,74 (0,18-2,97) 0,69 (0,08-5,74) 0,98 (0,2-4,9) 1,25 (0,31-4,97) 2,72 (0,34-21,88) 3,28 (0,37-29,45) 4,05 (0,45-36,41)
Boice <i>et al.</i> , 2006	Travailleurs (aéronautique), Californie (USA) Cancer hépatique et des voies biliaires Exposition TCE	4	1,28 (0,35-3,27)
Chang <i>et al.</i> , 2003	Travailleurs (électronique) (n= 86 868), Taiwan <u>Hommes</u> <u>Femmes</u>	0 0	0,00 (NA) 0,00 (NA)
Boice <i>et al.</i> , 1999	Travailleurs (fabrication aéronautique) (n = 77 965), Californie (USA) Cancer hépatique et des voies biliaires Travailleurs exposés employés depuis au moins 1 an depuis 1960 (exposition fréquente) <u>Durée potentielle d'exposition</u> - < 1 ans - 1-4 ans - > 5 ans	4 4 3 6	0,54 (0,15-1,38) 0,53 (0,18-1,60) 0,52 (0,15-1,79) 0,94 (0,36-2,46)
Ritz, 1999	Travailleurs mâles (uranium) (n = 3 814 dont 2 971 potentiellement exposés au TCE), USA Cancer hépatique et des voies biliaires TCE, huiles de coupe ou kérosène <u>TCE, faible exposition</u> - >2 ans, pas latence - >>2 ans, 15 ans de latence - 5 ans, pas latence - >5 ans, 15 ans de latence <u>TCE, exposition modérée</u> - >2 ans, pas latence - >2 ans, 15 ans de latence - >5 ans, pas latence - > 5 ans, 15 ans de latence	8 3 3 3 3 1 1 1 1	1,66 (0,71-3,26) 0,93 (0,19-4,53) 1,16 (0,24-5,60) 1,90 (0,35-10,3) 2,86 (0,48-17,3) 4,97 (0,48-51,1) 5,53 (0,54-56,9) 8,82 (0,79-98,6) 12,1 (1,03-144)
Blair <i>et al.</i> 1998 Stewart <i>et al.</i> 1991	Travailleurs (maintenance avion) (n = 14 457), Utah (USA) Cancer hépatique primitif suite à une exposition	4	1,7 (0,2-16,2)

	Cancer hépatique et des voies biliaires Exposition cumulée	15	1,3 (0,5-3,4)
	<u>Hommes</u>		
	- Pas exposition	3	0,5 (0,1-2,4)
	- < 5 ans	6	1,1 (0,3-4,1)
	- 5-25 ans	3	0,9 (0,2-4,3)
	- >25 ans	3	0,7 (0,2-3,2)
	<u>Femmes</u>		
	- Pas exposition	3	4,2 (0,7-25,0)
	- < 5 ans	1	1,6 (0,2-18,2)
	- 5-25 ans	0	-
	- > 25 ans	2	2,3 (0,3-16,7)
Morgan <i>et al.</i> , 1998 et 2000	Travailleurs (aéronautique) (n = 20 508), Arizona (USA) Cancer hépatique et des voies biliaires		
	- Sub-cohorte exposée au TCE	6	0,98 (0,36-2,13)
	- Faible exposition cumulée (< 50 ppm)	3	1,32 (0,27-3,85)
	- Forte exposition cumulée (> 50 ppm)	3	0,78 (0,16-2,28)
	- Pic : moyen/fort vs faible/pas exposition	3	0,98 (0,29-3,35)
	- Exposition cumulée (faible)	3	2,12 (0,59-7,66)
	- Exposition cumulée (forte)	3	1,19 (0,34-4,16)
Greenland <i>et al.</i> , 1994	Travailleurs mâles blancs (usine de transformateurs) (n = 512 cas, 1 202 témoins), Massachusetts (USA) Cancer hépatique et des voies biliaires toujours exposés	9	0,54 (0,11-2,63)
Costa <i>et al.</i> , 1989	Travailleurs (aéronautique) (n = 8 626), Italie Cancer hépatique et des voies biliaires	5	0,7 (0,23-1,64)
Garabrant <i>et al.</i> , 1988	Travailleurs (aéronautique) (n = 14 067), San Diego (USA), environ 37% des emplois sont exposés Cancer hépatique et des voies biliaires	8	0,94 (0,40-1,86)

ND : non indiqué

3.6.1.3 Lymphome non-Hodgkinien

Les informations disponibles sur l'association entre le risque de LNH et l'exposition au TCE concernent des études de cohorte (Tableau 20), quelques études cas-témoins (Tableau 21) et des méta-analyses.

Concernant les études de cohorte, seules 2 études ont mis en évidence une augmentation de l'incidence de LNH, avec des résultats souvent à la limite de la significativité (Hansen *et al.*, 2013 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003) (Tableau 20). Aucune étude de cohorte n'a d'ailleurs mis en évidence d'excès de risque de mortalité par LNH.

L'association entre LNH et exposition au TCE a été étudiée dans 8 études cas-témoins (Tableau 21). Trois d'entre elles montrent une association entre LNH et exposition au TCE (Gold *et al.* 2011 ; Purdue *et al.*, 2011 ; Deng *et al.*, 2012 ; Hardell *et al.*, 1994 cités dans NRC, 2006 ; US EPA, 2011, CIRC, 2014a). Le risque défini par Hardell *et al.* (1994) est large et imprécis, basé sur 4 cas (RR = 7,2 ; IC_{95%} = 1,3-42). L'étude de Deng *et al.* (2012) est cependant un complément à l'étude de Wang *et al.* (2009), dans l'objectif d'étudier si susceptibilité individuelle à l'exposition au formaldéhyde était modifiée par le génotype.

Tableau 20 : Résultats des études de cohorte pour le lymphome non-hodgkinien (NRC, 2006 ; US EPA, 2011, CIRC, 2014a)

Référence	Population	Cas exposés	Risque relatif estimé (IC _{95%})
Études de cohorte – Incidence			
Zhao <i>et al.</i> (2005)	Travailleurs (aéronautique) (n = 6 107 ♂), Californie		
	Score d'exposition cumulée (score d'exposition 0-3 x nombre d'années à ce poste)		
	- Faible (0-3)	28	1
	- Moyen (>3-12)	16	0,88 (0,47-1,65)
	- Haut (>12)	1	0,20 (0,03-1,46)
Raaschou-Nielsen <i>et al.</i> , 2003	Travailleurs (n = 40 049), Danemark	96	1,2 (1,0-1,5)
	Toutes expositions	35	1,5 (1,1-2,1)
	Durée d'exposition, 1-4,9 ans ≥ 5 ans	30	1,6 (1,1-2,2)
Hansen <i>et al.</i> , 2001	Travailleurs (biomonitoring TCA urinaire) (n = 803), Danemark		
	Toutes expositions	8	3,1 (1,3-6,1)
	Exposition cumulée, < 17 ppm-a	3	3,9 (0,8-11)
	> 17 ppm-a	3	3,1 (0,6-9,1)
	Concentration moyenne, < 4 ppm	4	3,9 (1,1-10)
	> 4 ppm	4	3,2 (1,1-10)
	Durée d'exposition, > 6,25 ans	2	2,5 (0,3-9,2)
	> 6,25 ans	4	4,2 (1,1-11)
Blair <i>et al.</i> , 1998	Travailleurs (maintenance avion) (n = 14 457 dont 7 204 exposés au TCE), Utah (USA)		
	Hommes exposition cumulée		
	- Pas exposition	0	
	- < 5 ppm-an	8	0,9 (0,3-2,6)
	- 5-25 ppm-an	4	0,7 (0,2-2,6)
	- >25 ppm-an	7	1,0 (0,4-2,9)
	Femmes, exposition cumulée		
	- Pas exposition	0	
	- < 5 ppm-an	1	0,6 (0,1-5,0)
	- 5-25 ppm-an	0	
- > 25 ppm-an	2	0,9 (0,2-4,5)	
Anttila <i>et al.</i> , 1995	Travailleurs (biomonitoring : TCA urinaire) (n = 3 089), Finlande	8	1,81 (0,78-3,56)
	Toutes expositions		
Axelsson <i>et al.</i> , 1994	Travailleurs mâles (biomonitoring : TCA urinaire) (n = 1 421), Suède	5	1,56 (0,5-3,64)
Études de cohorte – Mortalité			
Boice <i>et al.</i> , 2006	Travailleurs (aéronautique) (n = 8 372), Californie	1	0,21 (0,01-1,18)
Zhao <i>et al.</i> , 2005	Travailleurs (aéronautique) (n = 6 107 ♂), Californie		
	Score d'exposition cumulée (score d'exposition 0-3 x nombre d'années à ce poste)		
	- Faible (0-3)	27	1,0 (référence)
	- Moyen (>3-15)	27	1,49 (0,86-2,57)
	- Haut (>15)	6	1,30 (0,52-3,23)
Chang <i>et al.</i> 2003	Travailleurs (électronique) (n= 86 868), Taiwan	5	1,27 (0,41-2,97)
	Hommes	10	1,14 (0,55-2,10)
	Femmes		
Boice <i>et al.</i> , 1999	Travailleurs (fabrication aéronautique) (n = 77 965), Californie (USA)		
	Exposition de « routine »	14	1,19 (0,65-1,99)
	Durée d'exposition au TCE		
	- 0	32	1,0 (référence)
	- < 1 ans	7	0,74 (0,32-1,72)

	- 1-4 ans	10	1,33 (0,64-2,78)
	- ≥ 5 ans	14	1,62 (0,82-3,22)
Morgan <i>et al.</i> , 1998	Travailleurs (aéronautique) (n = 20 508), Arizona (USA) <u>Sub-cohorte exposée au TCE</u>		
	- Exposition	3	0,96 (0,20-2,81)
	- Faible exposition	2	1,79 (0,22-6,46)
	- Forte exposition	1	0,50 (0,01-2,79)
	<u>Pic (référence : pas/faible exposition)</u>	9	1,0 (référence)
	Moyen/fort	2	1,31 (0,28-6,08)
	- Exposition cumulée (faible)	2	2,25 (0,46-11,1)
	- Exposition cumulée (forte)	1	0,81 (0,10-6,49)
Blair <i>et al.</i> , 1998, Radican <i>et al.</i> , 2008	Travailleurs (aéronautique) (n = 14 457 dont 7 204 jamais exposés au TCE), Utah (USA) Subcohort exposée au TCE <u>Hommes – expo cumulée</u>	28	2,0 (0,9-4,6)
	<5 ppm-an	10	1,8 (0,6-5,4)
	5-25 ppm-an	6	1,9 (0,6-6,3)
	>25 ppm-an	5	1,1 (0,3-3,8)
	<u>Femmes – expo cumulée</u>		
	- <5 ppm-an	3	3,8 (0,8-18,9)
	- 5-25 ppm-an	0	
	- >25 ppm-an	4	3,6 (0,8-16,2)
Greenland <i>et al.</i> , 1994	Travailleurs mâles blancs (usine de transformateurs), toujours exposés (n = 512 cas, 1 202 témoins), Massachusetts (USA)	15	0,76 (0,24-2,42)
Blair <i>et al.</i> , 1989	Travailleurs hommes (n = 3781) Inspecteurs de la marine Non inspecteurs	4 1	1,75 (0,48-4,49) 0,41 (0,01-2,30)
Garabrant <i>et al.</i> , 1988	Travailleurs (maintenance avion) (n = 14 067), San Diego (USA), 37% des emplois exposés au TCE	13	0,82 (0,44-1,41)

Tableau 21 : Résultats des études cas-témoins pour le lymphome non-hodgkinien (NRC, 2006 ; US EPA, 2011 ; CIRC, 2014a)

Référence	Population	Cas exposés	Risque relatif estimé (IC _{95%})
Vlaanderen <i>et al.</i> , 2013	Travailleurs, pays nordiques (Danemark, Finlande, Islande, Norvège et Suède) 69 254 cas/346 270 témoins Exposition au TCE (estimation quantitative par matrice emploi exposition développée par le Nordic occupational Cancer) <u>Exposition cumulée</u>		
	Tertile 1	1 213	HR = 1,01 (0,95-1,07)
	Tertile 2	1 183	HR = 0,93 (0,88-1,00)
	Tertile 3	1 211	HR = 0,97 (0,91-1,03)
	<u>Exposition cumulée - Hommes</u>		
	Tertile 1	950	HR = 1,02 (0,95-1,1)
	Tertile 2	943	HR = 0,9 (0,84-0,97)
	Tertile 3	1 039	HR = 0,97 (0,91-1,04)
	<u>Exposition cumulée – Femmes</u>		
	Tertile 1	263	HR = 0,95 (0,83-1,08)
	Tertile 2	240	HR = 1,1 (0,95-1,26)
	Tertile 3	172	HR = 0,95 (0,8-1,12)
	<u>Plus forte exposition cumulée</u>	353	HR = 0,65 (0,84-1,06)
	Hommes	257	HR = 0,96 (0,84-1,1)
	Femmes	96	HR = 0,92 (0,74-1,15)
Gold <i>et al.</i> (2011)	Hommes et femmes âgés de 20 à 74 ans dans l'Iowa, la Californie, Seattle et Detroit.		

Purdue <i>et al.</i> (2011)	1189 cas/ 982 témoins		
	<u>Toute exposition au TCE</u>	545	1,1 (0,9-1,3)
	- possible	45	1,4 (0,8-2,4)
	- probable		
	<u>Exposition hebdomadaire moyenne</u>	341	1
	- 0 ppm-hr/semaine	15	1,6 (0,7-3,8)
	- 1-60 ppm-hr/semaine	7	0,5 (0,2-1,4)
	- 61-150 ppm-hr/semaine	23	2,5 (1,1-6,1)
	- >150 ppm-hr/semaine	3	0,4 (0,1-1,8)
	- 151-360 ppm-hr/semaine	20	7,9 (1,8-34,3)
	- >360 ppm-hr/semaine		
	<u>Exposition cumulée</u>	341	1
1. 0	14	1,4 (0,6-3,3)	
2. 1-46800 ppm-hr	7	0,6 (0,2-1,7)	
3. 46801-112320 ppm-hr	24	2,3 (1,0-5,0)	
4. 112320 ppm-hr			
<u>Type de LHN pour les expositions probables</u>	155	0,9 (0,5-2,0)	
- Diffus	13	2,1 (1,0-4,2)	
- Folliculaire	11	2,7 (1,2-5,8)	
- CLL			
Cocco <i>et al.</i> (2010)	Hommes et femmes d'Europe centrale agé des plus de 17 ans.		
	2348 cas/ 2462 témoins	71	0,8 (0,6-1,1)
	Toutes expositions		
	<u>Exposition cumulée</u>	26	0,9 (0,6-1,6)
	1. Faible	16	0,5 (0,3-0,9)
	2. Moyenne	29	1,0 (0,6-1,6)
	3. Forte		
	<u>Type de LNH</u>	17	0,7 (0,4-1,1)
	1. Diffus	11	1,2 (0,6-2,3)
	2. Folliculaire	18	0,9 (0,5-1,5)
3. CLL	9	0,6 (0,3-1,2)	
4. Myelome multiple	6	0,9 (0,4-2,2)	
5. Lymphome de cellules T			
Wang <i>et al.</i> (2009)	Femmes âgées de 21 à 84 ans dans le Connecticut		
	601 cas/ 717 rémoins		
	Toutes expositions	77	1,2 (0,9-1,8)
	Faible intensité d'exposition	64	1,1 (0,8-1,6)
	Moyenne/forte intensité d'exposition	13	2,2 (0,9-5,4)
	Faible probabilité d'exposition	43	1,1 (0,7-1,8)
	Moyenne-forte probabilité d'exposition	34	1,4 (0,9-2,4)
	Faible intensité/faible probabilité	30	0,9 (0,6-1,5)
	Faible intensité/moyenne-forte probabilité	34	1,4 (0,9-2,4)
	Moyenne-forte intensité/faible probabilité	13	2,2 (0,9-5,4)
Moyenne-forte intensité/moyenne-forte probabilité	0		
Miligi <i>et al.</i> (2006) Costantini <i>et al.</i> (2008)	Hommes et femmes âgés de 20 à 74 ans dans 8 régions d'Italie		
	1428 LNH, 304 lymphome de Hodgkin / 1530 témoins		
	Intensité de l'exposition		
	- Très faible/faible	35	0,8 (0,5-1,3)
	- Moyenne/forte	35	1,2 (0,7-2,0)
	Durée d'exposition		
	1. < 15 ans	22	1,1 (0,6-2,1)
	2. > 15 ans	12	1,0 (0,5-2,6)
Persson et Fredrikson (1999)	Population Suedoise		
	199 cas/479 témoins	16	1,2 (0,5-2,4)
Hardell <i>et al.</i> (1994)	Population Suedoise		
	105 cas/335 témoins	4	7,2 (1,3-42)
Deng <i>et al.</i> (2012)	Connecticut. Se chevauche avec Wang <i>et al.</i> (2009)		
	518 cas/597 témoins		
	Génotype TT	14	0,70 (0,34-1,42)
Génotype AT/AA	51	2,09 (1,28-3,42)	

En 2000, Wartenberg *et al.* ont réalisé une revue de 80 articles et lettres sur l'épidémiologie du cancer chez des personnes exposées au TCE. Un excès d'incidence des cancers dans les cohortes en milieu professionnel dans lesquelles l'exposition est la mieux évaluée¹⁵, a été mis en évidence pour les LNH (RR = 1,5 ; IC_{95%} = 0,9-2,3). Cependant, la plupart des études n'ont pas évalué l'exposition au TCE de manière isolée ce qui entraîne une confusion avec l'exposition aux autres solvants connus pour induire des cancers chez l'Homme (Wartenberg *et al.*, 2000). Une méta-analyse portant sur le cancer du rein, le LNH et le cancer du foie et des voies biliaires a été réalisée à partir de 24 études de cohorte ou cas-témoins, par voie orale et inhalée (US EPA, 2011 ; Scott et Jinot, 2011). Pour les LNH, une méta-analyse de 19 études de cohorte et cas-témoins¹⁶ a été réalisée. Le RR combiné était de 1,23 (IC_{95%} = 1,07-1,42). En ne considérant que 13 études ayant évalué les groupes soumis à l'exposition la plus élevée, le RR combiné est de 1,43 (IC_{95%} = 1,13-1,82).

Une méta-analyse sur 14 cohortes professionnelles et 4 études cas-témoins¹⁷ chez des travailleurs exposés au TCE a étudié la relation entre exposition au TCE et le risque de LNH. Mandel *et al.* ont montré une relation faible mais significative entre exposition au TCE et LNH pour les études de cohorte détaillant le mieux les expositions au TCE (SRRE = 1,29 ; IC_{95%} = 1-1,66). Cependant, les auteurs n'ont pas mis en évidence d'associations dose-réponse, suggérant une insuffisance de preuves pour établir un lien causal entre exposition au TCE et survenue de LNH (Mandel *et al.*, 2006). Cette conclusion a été clairement mise en cause dans une lettre rédigée par Wartenberg qui considère les données présentées en faveur d'une implication causale du TCE dans les LNH (Wartenberg, 2007).

Dans leur méta-analyse (7 études de cohortes et 1 étude cas-témoin¹⁸), Alexander *et al.* (2006) n'ont pas mis en évidence d'association significative entre exposition au TCE et risques de myélome multiple et de leucémies. Ils ont conclu que les données analysées ne permettent pas d'établir un lien causal entre exposition professionnelle au TCE et risque de myélome multiple (SRRE = 1,05 ; IC_{95%} = 0,80-1,38 ; p = 0,94) et de leucémie (SRRE = 1,11 ; IC_{95%} = 0,93-1,32 ; p = 0,50).

Le CES estime que chez l'Homme, le niveau de preuve est limité pour l'association entre les LNH et l'exposition au TCE. A noter, également, que le groupe de LNH comprend une cinquantaine de types différents qui n'ont probablement pas tous les mêmes causes et il n'y a guère d'analyse disponible prenant en compte le type de LNH.

¹⁵ Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Blair *et al.*, 1998 ; Henschler *et al.*, 1995

¹⁶ Purdue *et al.*, 2011 ; Cocco *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2009 ; Radican *et al.*, 2008 ; Miligi *et al.*, 2006 ; Zhao *et al.*, 2005 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Hansen *et al.*, 2001 ; Boice *et al.*, 1999 ; Persson and Fredrikson, 1999 ; Morgan *et al.*, 1998 ; Nordström *et al.*, 1998 ; Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Greenland *et al.*, 1994 ; Hardell *et al.*, 1994 ; Siemiatycki, 1991 ; Boice *et al.*, 2006b ; Blair *et al.*, 1998

¹⁷ Cohortes : groupe 1 : Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Hansen *et al.*, 2001 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Blair *et al.*, 1998 ; Boice *et al.*, 1999 ; Morgan *et al.*, 1998 ; Ritz, 1999 ; Groupe 2 (manque d'information sur l'exposition) : Blair *et al.*, 1989 ; Chang *et al.*, 2003 ; Costa *et al.*, 1989 ; Garabrant *et al.*, 1988 ; Henschler *et al.*, 1995 ; Selden et Ahlborg, 1991 ; Cas-témoins : Greenland *et al.*, 1994 ; Hardell *et al.*, 1994 ; Persson *et al.*, 1989 ; Siemiatycki, 1991

¹⁸ Blair *et al.*, 1998 ; Boice *et al.*, 1999 ; Morgan *et al.*, 1998 ; Anttila *et al.*, 1995 ; Axelson *et al.*, 1994 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Hansen *et al.*, 2001 et Greenland *et al.*, 1994

3.6.2 Chez l'animal

Seules les études de Henschler *et al.* (1980), de Fukuda *et al.* (1983) et de Maltoni *et al.* (1988), disponibles dans la littérature, ont étudié la cancérogénicité pour la voie respiratoire (Tableau 22).

Henschler *et al.* ont investigué la cancérogénicité du TCE chez des rats Wistar, des souris NMRI et des hamsters syriens (n = 30/espèce/sexe) exposés à des vapeurs de TCE (sans époxyde, stabilisé avec une amine) à des concentrations de 0, 100 ou 500 ppm 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 18 mois (Henschler *et al.*, 1980). Chez les rats et les hamsters, aucune augmentation de l'incidence des tumeurs n'a été observée. En revanche, chez les souris femelles, une augmentation significative de l'incidence des lymphomes malins a été observée aux deux concentrations testées (17/30 (57%) et 18/28 (64%)). Cependant, une forte incidence de ce type de tumeur était observée chez les témoins souris femelles (9/29, 30%). Les auteurs indiquent que les lymphomes apparaissent spontanément avec une incidence élevée chez les souris NMRI, suggérant que ces tumeurs ne peuvent pas être attribuées à l'exposition au TCE. Toutefois, les données relatives aux contrôles historiques du laboratoire ou de la souche ne sont pas décrites dans la publication.

Une autre étude a été conduite par Fukuda *et al.* chez des souris femelles ICR et des rates Sprague-Dawley. Des groupes d'une cinquantaine de femelles ont été exposés à 0, 50, 150 et 450 ppm de TCE (pureté : 99,82%, impuretés incluent de l'épichlorhydrine à 0,019%) 7 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 2 ans, suivi par 3 semaines d'observation. Chez les rates, les auteurs n'ont pas observé d'augmentation de l'incidence de cancer. L'incidence des adénocarcinomes pulmonaires, spécifiques de la souris, était significativement augmentée à 150 et 450 ppm par rapport aux témoins chez les souris (Fukuda *et al.*, 1983).

Maltoni *et al.* (1988) ont réalisé plusieurs études de cancérogénèse par inhalation chez des rats Sprague-Dawley (n = 130) et des souris Swiss (n = 90/groupe/sexe) et B6C3F1 (n = 90/groupe/sexe). Ces animaux ont été exposés par inhalation à 0, 100, 300 et 600 ppm de TCE d'une pureté de 99,9% (sans époxyde), 7 heures par jour et 5 jours par semaine pendant 8 ou 104 semaines pour les rats et 8 ou 78 semaines pour les souris. Les observations ont été conduites jusqu'à la mort des animaux (vie entière) (Maltoni *et al.*, 1988).

Aucune différence significative d'incidence des tumeurs n'a été mise en évidence chez les souris et les rats exposés 8 semaines.

Chez les rats Sprague Dawley, l'incidence des cancers, tous sites et types confondus, n'est pas affectée par le TCE. Des adénocarcinomes des tubules rénaux ont été mis en évidence uniquement à la concentration la plus forte : l'incidence était de 4/130 chez les mâles pour 1/130 chez les femelles. Ces tumeurs semblent associées préalablement à des lésions nucléaires des cellules épithéliales des tubules (cytocaryomégalies) observées à 300 et 600 ppm. Une augmentation dose-réponse statistiquement significative des tumeurs de cellules de Leydig a été mise en évidence à toutes les concentrations : 6/135 (4%) chez les témoins, 16/130 (12%) à 100 ppm, 30/130 (23%) à 300 ppm et 31/130 (24%) à 600 ppm. Ces tumeurs des cellules de Leydig étaient significativement augmentées aux trois concentrations testées (p<0,05). Peu de données sont disponibles à ce jour sur le mécanisme d'action des tumeurs testiculaires mais il est suggéré un mécanisme de perturbation hormonale chez les rats mâles. A noter que les adénocarcinomes rénaux et les tumeurs testiculaires sont spécifiques de l'espèce et du genre.

Chez les souris Swiss, il n'a pas été observé d'augmentation de l'incidence totale des tumeurs (Maltoni *et al.*, 1988). En revanche, une augmentation significative de l'incidence des tumeurs malignes a été mise en évidence chez les souris B6C3F1 femelles à toutes les concentrations. Des tumeurs pulmonaires (principalement des adénomes) ont été mises en évidence uniquement chez les femelles B6C3F1 et chez les mâles Swiss, avec une relation dose-réponse (4/90 chez les témoins, versus 6/90, 10/90 et 15/90 pour les femelles ; 10/90 chez les témoins, versus 11/90, 23/90 et 27/90 pour les mâles). Des hépatomes ont également été mis en évidence uniquement chez la souris (mâles et femelles B6C3F1 et mâles Swiss).

Bell *et al.* (1978 cité dans OEHHA, 2009) ont exposé des rats Charles River (n = 120/groupe) et des souris B6C3F1 (n = 140/groupe) à des vapeurs de TCE (100, 300, ou 600 ppm) pendant 104 semaines, 6 h/j, 5 j/semaine. Le TCE était pur à plus de 99% mais contenait des impuretés (diisobutylène, l'oxyde de butylène, l'acétate d'éthyle, le N-méthylpyrrole et l'épichlorhydrine). Les incidences des carcinomes hépatocellulaires chez les souris mâles exposées à 100 (28/95), 300 (31/100) et 600 ppm (43/97) étaient significativement augmentées par rapport aux témoins (18/99). A 600 ppm, les souris femelles présentaient une augmentation significative de l'incidence des adénomes et carcinomes hépatocellulaires combinés (17/99) par rapport à celle des témoins (8/99). Aucune augmentation statistiquement significative de l'incidence de tumeur n'a été observée chez les rats traités. Une vérification a révélé des erreurs méthodologiques dans cette étude, sans plus de précision (OEHHA, 2009).

Les tumeurs pulmonaires sont observées chez plusieurs souches de souris mais pas dans les autres espèces. L'induction de ces tumeurs est probablement spécifique de la souris, espèce qui possède beaucoup de cellules de Clara, riches en CYP450 mais dépourvues d'aldéhyde-déshydrogénase, par comparaison avec le rat et surtout avec l'espèce humaine (CE, 2004).

Les études mettent également en évidence des adénomes et adénocarcinomes hépatiques, ainsi que des lymphomes, uniquement chez la souris et des tumeurs rénales et des cellules de Leydig uniquement chez le rat. Ces tumeurs sont également spécifiques de l'espèce.

Tableau 22 : Résultats des études de cancérogenèse animales par inhalation pour le TCE

Espèce et souche	Protocole (expositions en mg.m ⁻³)	Incidences tumorales	Références
Souris B6C3F1 (2 sexes)	0 – 540 – 1620 – 3240 (0 – 100 – 300 – 600 ppm) 7h/j, 5j/sem. – 78 semaines Observations vie entière Pureté du TCE 99,9% sans époxyde (butylhydroxy toluène utilisé comme stabilisant)	<u>Tumeurs malignes - femelles</u> : 49/90, 63/90 (p<0,05), 60/90 (p<0,05), 70/90 (p<0,01) <u>Tumeurs pulmonaires femelles (hyperplasie, adénomes et adénocarcinomes)</u> : 4/90, 6/90, 10/90, 15/90 (p<0,05) <u>Carcinomes hépatocellulaires mâles + femelles</u> : 4/180, 5/180 ; 7/180, 15/180 (p<0,01)	Maltoni <i>et al.</i> 1988
Souris Swiss (2 sexes)	0 – 540 – 1620 – 3240 (0 – 100 – 300 – 600 ppm) 7h/j, 5j/sem. – 78 semaines Observations vie entière Pureté du TCE 99,9% sans époxyde (butylhydroxy toluène utilisé comme stabilisant)	<u>Tumeurs pulmonaires - mâles (hyperplasie, adénomes et adénocarcinomes)</u> : 10/90, 11/90, 23/90 (p<0,01), 27/90 (p<0,05) <u>Carcinomes hépatocellulaires - mâles</u> : 4/90, 2/90, 8/90, 13/90 (p<0,05)	
Souris NMRI (2 sexes)	0 – 540 – 2700 6h/j, 5j/sem – 78 semaines Observations jusqu'à la semaine 130 TCE purifié sans époxyde (triéthanolamine comme stabilisant)	<u>Lymphomes - femelles</u> : 9/29, 17/30, 18/28	Henschler <i>et al.</i> 1980
Souris ICR (femelles)	0 – 270 – 810 – 2430 (0 – 50 – 150 – 450 ppm) 7h/j, 5j/sem – 104 semaines Observations jusqu'à semaine 107 TCE pureté 99,8% (0,13% de tétrachlorure de carbone, 0,02% de benzène et 0,02% d'épichlorhydrine)	<u>Adénocarcinomes pulmonaires</u> : 1/49, 3/50, 8/50 (p<0,05), 7/46 (p<0,05)	Fukuda <i>et al.</i> 1983
Souris B6C3F1 (2 sexes)	0 - 100 – 300 - 600 ppm 6 h/j, 5 j/semaine - 104 semaines TCE pureté > 99% (impuretés : diisobutylène, oxyde de butylène, acétate d'éthyle, N-méthylpyrrole et épichlorhydrine)	<u>Carcinomes hépatocellulaires - mâles</u> : 18/99, 28/95 (p<0,05), 31/100 (p = 0,03), 43/97 (p<0,001) <u>Adénomes et carcinomes hépatocellulaires combinés – femelles</u> : 8/99 à 0 ppm et 17/99 à 600 ppm (p<0,05)	Bell <i>et al.</i> , 1978
Hamster Syrian (2 sexes)	0 – 540 – 2700 6h/j, 5j/sem. – 78 semaines Observations jusqu'à la semaine 130 TCE purifié sans époxyde (triéthanolamine comme stabilisant)	Pas d'augmentation de l'incidence de tumeurs	Henschler <i>et al.</i> 1980
Rats Wistar (2 sexes)	0 – 540 – 2700 6h/j, 5j/sem. – 78 semaines Observations jusqu'à semaine 156 TCE purifié sans époxyde (triéthanolamine comme stabilisant)	Pas d'augmentation de l'incidence de tumeurs	Henschler <i>et al.</i> 1980
Rats Sprague-Dawley (femelles)	0 – 270 – 810 – 2430 (0 – 50 – 150 – 450 ppm) 7h/j, 5j/sem – 104 semaines Observations jusqu'à semaine 107 TCE pureté 99,8% (0,13% de tétrachlorure de carbone, 0,02% de benzène et 0,02% d'épichlorhydrine)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs	Fukuda <i>et al.</i> 1983
Rats Sprague-Dawley (2 sexes)	0 – 540 – 1640 – 3280 (0 – 100 – 300 – 600 ppm) 7h/j, 5j/sem – 104 semaines Observations vie entière TCE pureté 99,9% sans époxyde (butylhydroxy toluène utilisé comme stabilisant)	<u>Adénocarcinomes rénaux</u> (observé seulement à 600 ppm) : 4/130 chez les mâles, 1/130 chez les femelles <u>Tumeurs des cellules de Leydig</u> : 6/135, 16/130 (p<0,05), 30/130 (p<0,01), 31/130 (p<0,01)	Maltoni <i>et al.</i> 1988

Rats Charles River (2 sexes)	0 - 100 – 300 - 600 ppm 6 h/j, 5 j/semaine - 104 semaines TCE pureté > 99% (impuretés : diisobutylène, oxyde de butylène, acétate d'éthyle, N-méthylpyrrole et épichlorhydrine)	Pas d'augmentation de l'incidence de tumeurs	Bell <i>et al.</i> , 1978
---------------------------------------	--	---	------------------------------

3.6.3 Mode d'action

Le métabolisme du TCE joue sans doute un rôle important dans son mécanisme d'action toxique. La complexité de ce métabolisme rend difficile l'identification de métabolites auxquels la toxicité du TCE pourrait être attribuée. En effet, certains métabolites sont instables et très réactifs : ils peuvent se lier de manière covalente avec l'ADN. Actuellement, seules des hypothèses sur le mécanisme d'action du TCE conduisant aux cancers rénaux et hépatiques sont précisées ci-dessous. Les informations sur le mode d'action pour les autres localisations sont limitées.

- Mode d'action pour les cancers du rein

Il n'existe à ce jour aucun consensus sur le mécanisme d'action cancérigène du TCE sur le rein. Plusieurs hypothèses mécanistiques ont été émises, dont la synthèse a été réalisée dans deux documents du NRC (2006) puis de l'ECHA (2014).

La découverte des gènes suppresseurs de tumeurs a ouvert des perspectives de recherche. L'inactivation du gène suppresseur de tumeur VHL chez l'Homme est responsable du syndrome héréditaire de cancer VHL, prédisposant les personnes affectées à une variété de tumeurs sur des organes cibles spécifiques. Plus de 80% des carcinomes cellulaires rénaux sporadiques sont associés à l'inactivation du gène VHL. La protéine produite par le gène VHL semble réguler l'arrêt du cycle cellulaire (transition de G1 à G0). D'après le NRC (2006), les données soutiennent l'hypothèse d'un effet génotoxique du TCE conduisant à des dommages sur le gène VHL et le développement ultérieur de carcinomes cellulaires rénaux chez les sujets fortement exposés. Ces données constituent un mécanisme plausible pour indiquer que le TCE est un cancérigène chez l'Homme après une exposition chronique à de fortes concentrations comme dans les études chez les travailleurs, réalisées en Allemagne (Henscher *et al.*, 1995 ; Vamvakas *et al.*, 1998). Le TCE induirait ainsi des mutations sur le gène VHL en générant une signature génétique unique de l'exposition au TCE, comme la mutation p.P81S (Desimone *et al.*, 2013). Le NRC souligne la nécessité de confirmer les observations initiales par des études sur la mutagénicité et la cancérigénicité à un niveau moléculaire d'autant plus qu'il est discuté que seule l'altération du gène VHL soit suffisante pour induire un processus tumorigène au niveau rénal. D'ailleurs, Charbotel *et al.* réfutent l'association entre le nombre et le type de mutations sur le gène VHL et l'exposition au TCE (Charbotel *et al.*, 2007).

L'action des métabolites du TCE semble par contre acquise. Certaines études discutent le rôle du métabolisme dans l'induction de tumeurs rénales (Brüning et Bolt, 2000 cité dans NRC, 2006). Ces études sur le métabolisme du TCE chez les rongeurs et l'Homme soutiennent le rôle d'une bioactivation dans le développement d'une néphrotoxicité et d'une cancérigénicité rénale (Lash *et al.*, 1995 ; 2001 ; 2002 et 2003 ; Lash, 2004 cités dans NRC, 2006 ; Caldwell et Keshava, 2006). Comme décrit précédemment, le TCE est métabolisé par deux voies (oxydation par les CYP450 et la conjugaison au glutathion). Les effets rénaux pourraient être liés à la formation des dérivés du

DCVC. Le DCVC et son métabolite acide mercapturique, la NAcDCVC, ont été identifiés dans les urines d'humains exposés à la substance, soulignant ainsi l'activation de la voie glutathion par le TCE chez l'Homme. Les données de mutagenèse (cf. §3.5) semblent indiquer que le TCE n'est pas ou faiblement génotoxique, que ses métabolites de la voie oxydative le sont un peu plus, et que les métabolites les plus génotoxiques sont issus de la voie du glutathion, en particulier la DCVG et la DCVC.

L'impact de cette dernière voie métabolique semble avoir été confirmé par les résultats d'une étude cas-témoins comparant la survenue de cancers du rein au sein d'une population exposée professionnellement, classée en groupes exposé/non exposé sur la base d'un recueil par questionnaire du cursus professionnel et d'avis d'experts (Moore *et al.*, 2010). Dans cette étude, un excès de risque de cancer rénal n'a été mis en évidence que parmi les sujets possédant au moins un allèle GSTT1 intact codant pour la GST (RR = 1,88 ; IC_{95%} = 1,06-3,33), et pas chez les sujets déficients en GST, dont les deux allèles GSTT1 étaient délétés (RR = 0,93 ; IC_{95%} = 0,35-2,44). Cette différence entre les sujets GSTT1 + et GSTT1- est retrouvée si l'on prend en compte les niveaux d'exposition, notamment l'intensité moyenne d'exposition. Les auteurs concluent que les résultats de cette étude constituent au jour de sa parution la preuve la plus solide de l'importance des métabolites du TCE issus de la voie du glutathion dans l'apparition des cancers du rein. C'est d'ailleurs sur cette étude que s'appuie le CIRC en 2012 pour étayer, sur le plan mécanistique, le classement du TCE en cancérogène du groupe 1 en complément des études cas-témoins (Guha *et al.*, 2012).

Dans les études animales, les cancers rénaux apparaissent à de fortes concentrations consécutivement à une toxicité rénale affectant les tubules proximaux (NTP, 1988 et 1990 cités dans NRC, 2006). Ces résultats ont conduit à l'hypothèse d'une néphrotoxicité qui serait un prérequis pour le développement de tumeurs rénales et que les niveaux d'exposition inférieurs aux concentrations néphrotoxiques n'induisent pas de risque de cancer. Certains auteurs avancent l'idée d'un seuil en dessous duquel aucune toxicité rénale, et par conséquent aucun risque de cancer rénal, n'apparaît (Brüning et Bolt, 2000 ; Hart, 2005 cités dans NRC, 2006). Pour cette hypothèse, l'accélération du renouvellement cellulaire consécutif à la néphrotoxicité favoriserait l'expression de mutations au sein du cortex rénal (spontanée ou induite par l'exposition à d'autres agents).

Les conclusions semblent concordantes entre les études animales et humaines sur le site de tumeurs. Dans les études expérimentales, les rats développaient une toxicité tubulaire rénale avant l'apparition de tumeurs. La néphrotoxicité précédant le cancer, apparaît également probable chez l'Homme, bien qu'aucune donnée clinique ou épidémiologique n'en apporte à ce jour la preuve formelle. Le NRC (2006) considère que les deux mécanismes d'action impliquant l'accumulation de $\alpha_2\mu$ -globuline et l'activation de proliférateurs de peroxyosomes n'interviennent pas dans les cancers rénaux induits par le TCE. D'autres hypothèses plus complexes ont été avancées impliquant l'induction par le DCA et le TCA de modifications du système de signalisation cellulaire contrôlant la division et la mort cellulaire (Bull, 2000 ; Bull *et al.*, 2002 ; Clewel *et al.*, 2004 cités dans NRC, 2006).

Lock et Reed¹⁹ (2006) ont examiné les données publiées sur le TCE et ses métabolites. Les auteurs indiquent que le TCE n'a ni action directe génotoxique (adduit stable sur l'ADN), ni action indirecte *via* un stress oxydatif. Ils excluent également l'action de la substance *via* l'accumulation d' α 2 μ -globuline ou l'induction d'une néphropathie progressive chronique pour le mode d'action cancérigène, les deux mécanismes n'étant pas jugés transposables chez l'Homme. Les preuves sont également insuffisantes pour soutenir le mécanisme impliquant une cytotoxicité directe de la substance suivie d'une régénération prolongée. Les auteurs privilégient le mécanisme impliquant la conjugaison avec le glutathion, suivie de la formation de multiples métabolites électrophiles. Lock et Reed (2006) estiment qu'il existe un seuil en dessous duquel aucune atteinte rénale n'est attendue, incluant également le cancer.

En s'appuyant sur l'ensemble de ces données, et tout particulièrement sur 3 études épidémiologiques allemandes (Henschler *et al.*, 1995 ; Vamvakas *et al.*, 1998 ; Brüning *et al.*, 2003), l'AGS²⁰ (2008) a proposé une approche infralinéaire de la relation dose-réponse entre l'exposition au TCE et la survenue d'un cancer rénal (Figure 4). Tout en prenant comme point de départ, comme pour la classique extrapolation linéaire sans seuil proposée par d'autres institutions (Afsset, 2009 ; OMS, 2010 ; US EPA, 2011), un excès de risque de 5% à 75 ppm, l'AGS considère un effet cancérigène sans seuil, mais avec un point d'inflexion à un niveau d'exposition de 6 ppm, du fait de la cytotoxicité apparaissant à partir de ce seuil et au-delà duquel l'excès de risque de cancer est plus marqué. Cette approche est similaire à celle proposée en 2007 par le SCOEL, dont elle diffère simplement par le niveau d'exposition constituant le point d'inflexion de la courbe (10 ppm pour le SCOEL).

Les avis divergent donc encore au sein de la communauté scientifique concernant l'action génotoxique ou non génotoxique et la complexité des mécanismes d'action impliqués. Si certaines institutions recommandent une approche sans seuil de dose pour le cancer, d'autres jugent que les effets néphrotoxiques apparaissent avant le cancer rénal, estimant ainsi qu'il existe un seuil de dose protégeant des effets rénaux et par conséquent des tumeurs rénales. Il demeure difficile de trancher sur ce point. Caldwell et Keshava (2006) estimaient que la S-(1,2-dichlorovinyl)-l-cystéine et ses métabolites de bioactivation représentaient d'éventuelles voies d'activation cellulaire susceptibles d'être liées au mécanisme de cancer du rein à des concentrations inférieures à celles produisant une cytotoxicité rénale. Néanmoins, selon la synthèse de l'ECHA (2014), la voie du glutathion s'exprime essentiellement lorsque la voie métabolique oxydative par le CYP 450 est saturée.

- **Mode d'action pour les cancers hépatiques**

Il n'existe à ce jour aucun consensus sur le mécanisme d'action cancérigène du TCE sur le foie. Plusieurs hypothèses mécanistiques ont été émises, dont la synthèse a été réalisée dans trois documents : US EPA (2011), CIRC (2014a) et NTP (2015).

¹⁹ Soutien financier de l'Halogenated Solvent Industry Alliance

²⁰ Ausschuss für Gefahr Stoffe : comité sur les substances dangereuses du BAuA

Les métabolites du TCE produits par l'oxydation du CYP 450, principalement l'hydrate de chloral ; le TCA et DCA, sont très probablement responsables de la toxicité hépatique et du cancer aussi bien chez l'Homme que chez l'animal (US EPA, 2011). Cette hypothèse est étayée par des études chez l'animal montrant :

- une potentialisation de l'hépatotoxicité après un prétraitement avec des inducteurs CYP,
- des effets hépatiques similaires entre le TCE et ses métabolites d'oxydation,
- le traitement avec des inhibiteurs CYP diminue l'hépatotoxicité.

De plus, les analyses de tumeurs hépatiques basées sur l'immunocoloration pour c-Jun montrent que ni le TCA, ni le DCA ne peuvent à eux seuls expliquer toutes les caractéristiques des tumeurs hépatiques induites par le TCE (Bull *et al.*, 2002 cité dans NTP, 2015).

Plusieurs modes d'action plausibles sur le plan biologique ont été proposés pour le cancer du foie induit par le TCE chez l'animal : génotoxicité des métabolites d'oxydation, activation PPAR α , stress oxydatif, hypométhylation et changements dans l'expression des gènes (CIRC, 2014a ; US EPA, 2011). Un autre mode d'action possible est l'hépatite auto-immune (Czaja, 2013 ; Wang *et al.*, 2013 cités dans NTP, 2015). Selon l'US EPA, il existe des similitudes entre les modes d'action hypothétiques des tumeurs hépatiques chez la souris et certaines des caractéristiques connues du carcinome hépatocellulaire humain. Le mode d'action des tumeurs du foie est complexe et implique probablement des événements clés de plusieurs voies. Bien que le niveau de preuve varie selon les différents modes d'action, les données étaient insuffisantes pour appuyer une conclusion définitive selon laquelle l'un ou l'autre des modes d'action proposés est opérationnel. Les événements clés associés aux modes d'action proposés sont indiqués dans le tableau 23.

Tableau 23 : Mode d'action possible et évènements clés pour les cancers hépatiques induits par le TCE (NTP, 2015)

Mode d'action	Evènements clés
Génotoxicité	<ol style="list-style-type: none"> 1. Un ou plusieurs métabolites oxydatifs sont produits <i>in situ</i> ou délivré de façon systémique au foie ; 2. La génotoxicité induite par les métabolites oxydatifs fait progresser l'acquisition de multiples caractères critiques contributeurs de la cancérogénicité
Activation de PPAR α	<ol style="list-style-type: none"> 1. Les métabolites oxydatifs activent PPARα dans le foie ; 2. L'activation de PPARα conduit à l'altération de la prolifération cellulaire et de l'apoptose ; 3. Les altérations de la prolifération cellulaire et de l'apoptose induisent une expansion clonale des cellules initiées ; 4. L'expansion clonale des cellules initiées induisent la formation de tumeurs
Stress oxydatif	<ol style="list-style-type: none"> 1. Le TCE ou ses métabolites induisent un stress oxydatif ; 2. Le stress oxydatif cause une inflammation chronique, des mutations, et des dommages aux protéines, aux lipides et à l'ADN ; 3. Les mutations et les dommages aux macromolécules activent les voies de signalisation cellulaires, induisent une instabilité génomique et une transformation cellulaire, et conduisent au cancer.
Changements épigénétiques	<ol style="list-style-type: none"> 1. Les changements épigénétiques, en particulier la méthylation de l'ADN, sont induits par un ou plusieurs métabolites ; 2. Ces changements font progresser l'acquisition de multiples caractères critiques contributeurs de la cancérogénicité
Hépatites auto-immune	<ol style="list-style-type: none"> 1. Les métabolites réactifs forment des adduits aux protéines et/ou induisent un stress oxydatif conduisant à une peroxydation lipidique et des modifications oxydatives aux protéines dans le foie (néoantigènes) ; 2. Activation et infiltration hépatique des cellules T CD4+ et sécrétion de cytokines inflammatoires

Malgré des différences de sensibilité des espèces aux modes d'action proposés, aucune donnée ne suggère que le TCE cause des tumeurs du foie chez la souris par des mécanismes qui ne sont pas pertinents pour l'Homme. La plupart des modes d'action possibles pour les tumeurs du foie sont supportés par des données expérimentales et sont biologiquement plausibles chez l'Homme et les rongeurs. Toutefois, les données actuelles sont insuffisantes pour appuyer la conclusion selon laquelle l'une ou l'autre des hypothèses de mode d'action est opérante parce qu'un ensemble d'événements clés suffisant pour induire des tumeurs hépatiques n'a pas été identifié ou démontré. Il est probable que les métabolites oxydatifs (ex. TCA, DCA, hydrate de chloral) sont impliqués dans la cancérogénicité hépatique parce qu'ils induisent des effets hépatotoxiques et hépatocancérigènes semblables à ceux du TCE. Les analyses du phénotype des tumeurs du foie (ex. immunocoloration pour c-Jun) et du génotype (ex. fréquence et spectre des mutations H-ras) confirment le rôle du DCA et du TCA et montrent qu'aucun des deux métabolites ne peut à lui seul expliquer toutes les caractéristiques des tumeurs du foie induites par le TCE. Les données suggèrent que le mode d'action est complexe et implique probablement des événements clés de plusieurs voies (NTP, 2015).

3.7 Population sensible

Les **nourrissons et les jeunes enfants** peuvent être plus sensibles que les adultes à la toxicité du TCE en raison des différences de pharmacocinétique liées à l'âge :

- Absorption.

Par exemple, le TCE peut être absorbé à des concentrations plus élevées chez les enfants exposés par inhalation en raison des taux proportionnellement plus élevés de ventilation (volume inspiré/minute/kg pc/unité de surface alvéolaire) et du débit cardiaque par kg pc (US EPA, 2008 ; NRC, 2006 ; Snodgrass, 1992 cités dans ATSDR, 2014).

Les nourrissons peuvent être exposés au TCE *via* le lait maternel (Pellizzari *et al.*, 1982 cité dans ATSDR, 2014). Suite à une exposition par inhalation, des pics de TCE sanguin étaient plus élevés chez les rats allaités en comparaison de rats adultes exposés de façon similaire (Rodriguez *et al.*, 2007 cité dans ATSDR, 2014).

- Distribution.

Les études, aussi bien chez l'Homme que chez l'animal, indiquent que le TCE se distribue largement dans tous les tissus. Théoriquement, les individus jeunes ayant moins de graisse que les adolescents ou les adultes, les substances lipophiles, comme le TCE, sont plus biodisponibles pour de distribuer dans les autres organes, en particulier les organes cibles (NRC, 1993 cité dans ATSDR, 2014 et US EPA, 2011).

Le TCE traverse la barrière placentaire (Ghantous *et al.*, 1986 ; Whitey et Karpinski, 1985 ; Laham, 1970 ; Beppu, 1968 ; Jelliwell et Hutton, 1950 cités dans US EPA, 2011). Le TCE a été trouvé dans des différents organes (cerveau, foie, reins et/ou cœur) chez des lapins et des rats suite à une exposition prénatale (Beppu, 1968 ; Rodriguez *et al.*, 2007 cités dans US EPA, 2011).

- Métabolisme.

Le TCE est rapidement métabolisé par deux voies, d'une part *via* un métabolisme oxydatif (implication du CYP, principalement le CYP2E1) et dans une moindre mesure par conjugaison au glutathion (implication de la GST) (cf. §3.1.3). L'expression du CYP et du GST varie pendant les différents stades du développement et au cours du développement post-natal.

Une étude chez le rat rapporté une augmentation du métabolisme du TCE chez des rats sevrés de 3 semaines par rapport à des rats adultes âgés de 18 semaines (Nakajima *et al.*, 1992b cité dans US EPA, 2011 et ATSDR, 2014).

Les niveaux d'enzymes métabolisant les xénobiotiques sont plus faibles chez les nouveau-nés que chez les adultes, ce qui indique que les nouveau-nés peuvent être moins sensibles aux effets néfastes des métabolites réactifs du TCE. Par contre, les demi-vies de l'hydrate de chloral (un métabolite réactif du TCE) sont 3 à 4 fois plus longues chez les nouveau-nés prématurés et à terme que chez les jeunes enfants (Reimche *et al.*, 1989 cité dans ATSDR, 2014).

- Excrétion.

La principale voie d'élimination du TCE se fait par l'air expiré et pour ses métabolites, *via* les urines et les féces. Il faut noter que la capacité rénale du jeune enfant n'est pas mature avant l'âge de 6 mois (NRC, 1993 cité dans US EPA, 2011).

Suite à une exposition à un stade précoce de la vie, des études épidémiologiques ont mis en évidence des effets, en particulier des effets sur le développement comme une augmentation du taux d'avortement spontané (Windham *et al.*, 1991 cité dans ATSDR, 2014 et US EPA, 2011) et des malformations cardiaques (ATSDR, 2006 et 2008 ; Forand *et al.*, 2012 ; Yauck *et al.*, 2004 cités dans ATSDR, 2014 et US EPA, 2011).

Le nombre total de cancers infantiles a été examiné en relation avec l'exposition au TCE. Une étude réalisée chez des résidents de New York ayant pu être exposés à des COV, y compris du TCE, a observé moins de 6 cas de cancer diagnostiqués entre 1980 et 2001 chez des enfants âgés de 0 à 19 ans ce qui ne dépassait pas le nombre de cas ou les types attendus (ATSDR, 2006 cité dans US EPA, 2011).

Des études cas-témoins ont examiné des enfants présentant une leucémie lymphoïde aiguë et dont les parents présentaient exposition professionnelle. Ces études ont observé une augmentation non significative de 2 à 4 fois le risque de leucémie infantile en lien avec une exposition au TCE pendant la préconception, la grossesse, la période postnatale ou toutes les périodes de développement combinées (Shu *et al.*, 1999 ; McKinney *et al.*, 1991 ; Lowengart *et al.*, 1987 cités dans US EPA, 2011). Enfin, dans une étude cas-témoin sur l'exposition professionnelle des parents, l'exposition au TCE déclarée par le père n'était pas associée de façon significative au neuroblastome chez les enfants (OR = 1,4, IC_{95%} = 0,7-2,9) (De Roos *et al.*, 2001 cité dans US EPA, 2011). Des tumeurs cérébrales ont également été observées chez les enfants de pères exposés au TCE, mais l'OR n'a pu être déterminé (Peters *et al.*, 1985 et 1981 cités dans US EPA, 2011).

Certaines personnes qui ont travaillé pendant de longues périodes avec le TCE peuvent se sensibiliser au TCE et/ou à ses additifs et développer des réactions allergiques cutanées (Bauer et Rabens, 1974 ; Chittasobhaktra *et al.*, 1997 ; Czirjak *et al.*, 1993 ; El Ghawabi *et al.*, 1973 ; Goh et Ng, 1988 ; Hayashi *et al.*, 2000 ; Huang *et al.*, 2006 ; Kamijima *et al.*, 2007 ; Pantucharoensri *et al.*, 2004 ; Xu *et al.*, 2009 cités dans ATSDR, 2014).

Les personnes présentant des fonctions hépatique et rénale altérées peuvent présenter un risque plus élevé d'exposition au TCE ou à ses métabolites puisque le foie sert de site au métabolisme du TCE et que le rein est le principal organe excréteur des métabolites du TCE.

Le TCE utilisé comme anesthésique ou inhalé à de fortes concentrations intentionnellement ou professionnellement pouvait entraîner des arythmies cardiaques. Ainsi, certaines personnes

présentant des antécédents de troubles du rythme cardiaque peuvent être plus sensibles à une exposition élevée au TCE.

Le métabolisme du TCE, mesuré par les taux de métabolites urinaires excrétés, peut **différer entre les hommes et les femmes** (Inoue *et al.*, 1989 ; Kimmerle et Eben, 1973b cités dans ATSDR, 2014 ; Nomiya et Nomiya, 1971). Par exemple, les femmes excrètent plus de TCA urinaire (un métabolite du TCE et d'autres substances chlorées comme le perchloroéthylène) que les hommes (Kimmerle et Eben 1973b cité dans ATSDR, 2014 ; Nomiya et Nomiya, 1971). Lash *et al.* (1999a cité dans ATSDR, 2014) ont rapporté que les hommes exposés au TCE produisaient environ 3,5 fois plus de DCVG dans le sang que les femmes, ce qui indique que les hommes peuvent être plus sensibles à la toxicité rénale induite par le TCE. Cette étude serait en faveur d'une plus grande susceptibilité des hommes aux effets du TCE médiés par le DCVG. Ces données sont néanmoins à mettre en parallèle avec les résultats de l'étude de Burg *et al.* (1995) qui ont mis en évidence que les femmes âgées de 55 à 64 ans présentaient un risque élevé de néphropathie (RR = 4,57 ; IC_{99%} = 2,10-9,93) comparativement aux hommes.

Il existerait une susceptibilité au TCE liée à des **composantes génétiques**. Certains génotypes / phénotypes pourraient être plus sensibles au TCE en raison des différences de taux métaboliques (Brüning *et al.*, 1997 cité dans ATSDR, 2014 ; Dai *et al.*, 2009 ; Moore *et al.*, 2010 ; NRC, 2006).

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence par inhalation

4.1 VTR aiguës par inhalation

Dans son document de travail de 2014, l'ATSDR ne propose plus de MRL aigu considérant qu'il manque des données adéquates chez l'Homme ou l'animal pour une durée d'exposition inférieure à 14 jours. Les études disponibles concluant à des effets sur le développement (par ex. malformations cardiaques, immunotoxicité développementale) sont réalisées avec des expositions pendant la gestation ou pendant la gestation et en post-natal précoce ce qui correspond à une durée supérieure à 14 jours. Ces effets pourraient apparaître suite à des expositions inférieures à 15 jours si l'exposition a lieu pendant une période critique du développement et de telles études ne sont pas disponibles. De ce fait, selon l'ATSDR, il n'a pas été possible de dériver un MRL aigu sur ces effets. Il serait possible de construire un MRL basé sur un effet moins sensible mais cela pourrait sous-estimer le risque.

4.2 VTR subchroniques par inhalation

En 2014, l'ATSDR a proposé une nouvelle VTR de 0,002 mg.m⁻³ (0,0004 ppm) encore sous forme de document de travail. Cette MRL subchronique reprend la RfC chronique de l'US EPA (cf. chapitre 4.3.1.1). La VTR chronique de l'US EPA est basée sur l'utilisation d'un modèle PBPK en procédant à une simulation d'exposition de 100 semaines. La simulation a également été faite pour une simulation d'exposition de 52 semaines et aboutit à la même valeur. De ce fait, l'ATSDR a considéré que la VTR chronique de l'US EPA pouvait être retenu comme MRL subchronique.

Tableau 24 : VTR intermédiaires du TCE pour des expositions par inhalation

Organisme	Effet critique et études sources	Concentration critique	UF	Valeur VTR
ATSDR (draft 2014)	Reprise de la RfC chronique de l'US EPA (2011)			0,002 mg.m ⁻³ (0,0004 ppm)

4.3 VTR chroniques par inhalation

4.3.1 VTR à seuil

4.3.1.1 VTR de l'US EPA

En raison du nombre important d'effets associés à l'exposition au TCE et de publications disponibles, l'US EPA a suivi une méthode de construction à large spectre, reposant sur un processus de screening (Figure 2) permettant d'identifier les effets les plus sensibles pour différentes classes d'effet.

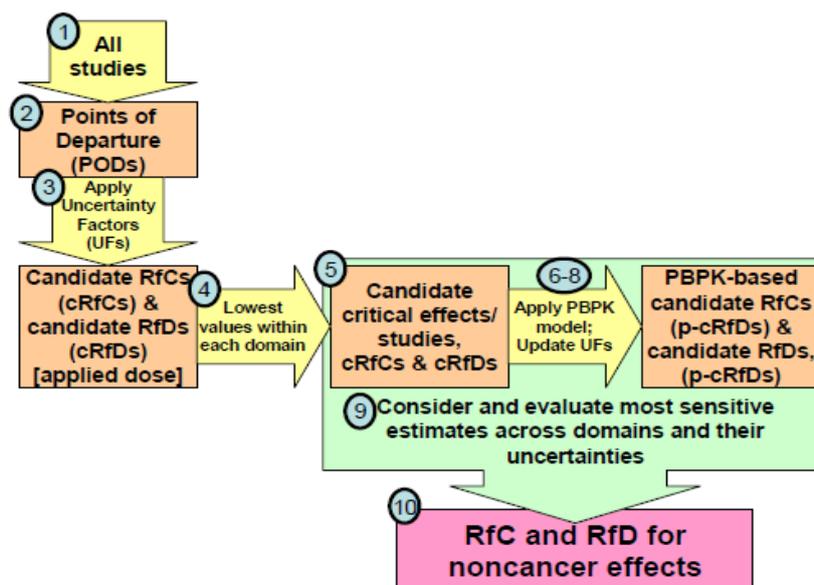


Figure 2 : Description du processus permettant de dériver la RfC

Des RfC candidates (cRfC) ont été construites pour tous les effets (endpoints) retenus comme pertinents à partir des études par inhalation et voie orale. Ainsi, toutes les études décrites mettant en évidence une relation dose-réponse ont été prises en compte (étape 1). Pour chaque étude et/ou effet, un point de départ (POD) a été retenu (BMC>NOAEC>LOAEC par ordre de priorisation) (étape 2). Ce POD a été ajusté si nécessaire pour prendre en compte les conditions expérimentales et l'extrapoler à l'Homme. Puis des facteurs d'incertitude (UF) ont été appliqués pour dériver une RfC candidate (cRfC) (étape 3). Ces cRfC ont été classées suivant 5 classes d'effets différents : neurologiques, systémiques non spécifiques (poids corporel) et toxicité spécifique d'organes (foie, reins), immunologique, reprotoxique et effet sur le développement (étape 4). Un effet critique candidat correspondant à la plus faible cRfC a été sélectionné pour chaque classe d'effet (étape 5). Pour chacun de ces effets critiques candidats, l'US EPA a réparti des études clés et des doses/concentrations critiques identifiées (POD) dans celles-ci (étape 5). Lorsque cela était possible, une benchmark concentration a été construite. Pour chaque effet critique, un modèle PBPK (Chiu *et al.*, 2009 ; Evans *et al.*, 2009) a été utilisé pour calculer un POD interne (étape 6) puis pour convertir en dose/concentration équivalente humaine (le résultat se présente sous forme du 99^{ème} percentile de concentration équivalente humaine, HEC₉₉) (étape 7). Enfin, un facteur d'incertitude (UF) a été appliqué pour chaque POD interne équivalent humain pour obtenir une RfC candidate provisoire (p-cRfC) pour chaque effet critique candidat (étape 8). Les incertitudes relatives aux cRfC et p-cRfC ont été caractérisées (étape 9). Pour finir, les cRfC et p-cRfC les plus sensibles ont été évaluées et une RfC a été proposée (étape 10).

Au vu des valeurs des p-cRfC, les effets les plus sensibles (valeurs numériques les plus faibles, en gras dans le tableau) sont les effets immunologiques et sur le développement (Tableau 25). Malgré une forte confiance dans la survenue des effets rénaux induits par le TCE, les effets rénaux n'ont pas été retenus comme effet critique car il existe des incertitudes importantes sur l'extrapolation de la conjugaison du GSH des rongeurs à l'Homme, étape toxicocinétique clé dans la toxicité rénale et sont donc considérés par l'EPA comme des effets « en soutien » (en italique dans le tableau). Les données pharmacocinétiques *in vitro* et *in vivo* indiquent que la production de métabolites conjugués de GSH est beaucoup plus importante chez l'Homme que chez le rat et la souris.

Tableau 25 : p-cRfC pour les effets critiques candidats

Type d'effet	Effet	p-cRfC (ppm)
Neurologique	Démyélinisation au niveau de l'hippocampe de rat	0,007*
Rénal	Néphropathie chez le rat	0,0006*
Hépatique	Augmentation du poids du foie chez la souris	0,9
Immunologique	Diminution du poids du thymus chez la souris	0,0003*
Reproducteur	Diminution de la capacité des spermatozoïdes de rats d'entraîner une fécondation	0,009*
Développement	Malformations cardiaques chez le rat	0,0004*

* extrapolation voie à voie

Pour les **effets sur le développement**, l'US EPA a retenu l'étude de Johnson *et al.* (Johnson *et al.*, 2003). Les auteurs ont exposé des rats Sprague-Dawley pendant la gestation (GD1-22) à 0 - 2,5 ppb – 250 ppb -1,5 ppm et 1100 ppm (soit 0 – 0,00045 – 0,048 - 0,218 – 128,52 mg/kg) *via* l'eau de boisson (*ad libitum*). Des augmentations significatives du pourcentage d'anomalies cardiaques et du pourcentage de portées présentant des anomalies cardiaques ont été mises en évidence à partir de 250 ppb. Cette étude a été retenue malgré des limites importantes décrites dans le rapport de l'US EPA, telles que l'absence de relation dose-réponse claire pour les anomalies cardiaques, un raisonnement sur des fœtus plutôt que sur des portées. Cependant, l'effet observé est supporté par d'autres études. Il s'agit de la seule étude mettant en évidence des malformations cardiaques qui permette une analyse de la relation dose-réponse.

Une benchmark dose (BMD) a été calculée en considérant un niveau d'effet de 1 % (sévérité d'effet) et après suppression du groupe de dose le plus important. La limite inférieure de l'intervalle de confiance de cette BMD (BMDL₀₁ 0,0142 mg TCE oxydé/kg^{3/4}/j) est ensuite transformée en dose interne puis en dose équivalente humaine et subit une extrapolation voie à voie (BMCL₀₁ HEC99 = 0,021 mg.m⁻³) grâce à un autre modèle PBPK. Enfin, un facteur d'incertitude de 10 (UF_A = $\sqrt{10}$, UF_H = $\sqrt{10}$) est appliqué pour prendre en compte la composante toxicodynamique de la variabilité inter-espèce et intra-espèce²¹.

En ce qui concerne les **effets immunologiques**, l'étude de Keil *et al.* a également permis de dériver une RfC candidate. Des souris femelles NZBWF1²² et B6C3F1 ont été exposées *via* l'eau de boisson à 0, 1400 ou 14 000 ppb de TCE pendant respectivement 27 semaines et 30 semaines (Keil *et al.*, 2009). Les auteurs ont mis en évidence une diminution significative de la masse du thymus à 1400 et 14000 ppb chez B6C3F1. Cette étude permet d'identifier un LOAEL de

²¹ L'US EPA a appliqué un UF de 10 détaillé comme suit :

- UF_L = 1 car le point de départ est une BMD₀₁ ;
- UF_A = $\sqrt{10}$ pour prendre en compte la composante toxicodynamique. L'utilisation d'un modèle PBPK pour extrapoler des doses internes du rat à l'Homme réduit les incertitudes sur la composante toxicocinétique mais ne prend pas en compte la possibilité que l'Homme soit plus sensible que le rat du fait de différences toxicodynamiques ;
- UF_H = $\sqrt{10}$ pour prendre en compte les possibles différences toxicodynamiques de sensibilité chez l'Homme. Le modèle PBPK Homme utilise les meilleures informations disponibles sur les variabilités toxicocinétiques mais ne prend pas en compte la possibilité que l'Homme soit plus sensible que le rat du fait de différences toxicodynamiques ;
- UF_S = 1 est appliqué car l'exposition couvre la fenêtre d'exposition pertinente évaluer l'effet critique.

²² Les souris NZBWF1 sont sensibles aux effets auto-immuns. Elles développent spontanément une maladie auto-immune qui ressemble à la sclérose érythémateuse systémique.

1400 ppb, soit $0,35 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$. Ce LOAEL (pas de construction possible de BMC) est transformé grâce à un modèle PBPK en LOAEL interne de $0,139 \text{ mg TCE oxydé/kg}^{3/4}/\text{j}$ puis en dose équivalente humaine et subit une extrapolation voie à voie avec le modèle PBPK ($\text{LOAEC}_{\text{HEC99}} = 0,19 \text{ mg.m}^{-3}$). Enfin, un facteur d'incertitude de 100 est appliqué pour prendre en compte la composante toxicodynamique de la variabilité inter-espèce et intra-espèce ($\text{UF}_A = \sqrt{10}$, $\text{UF}_H = \sqrt{10}$) et l'utilisation d'une LOAEC ($\text{UF}_L = 10$)²³.

Une moyenne a été calculée à partir de ces 2 RfC candidates pour obtenir la VTR à seuil (Tableau 26).

Tableau 26 : VTR à seuil par inhalation (US EPA, 2011)

Effet critique et étude source	Concentration critique	UF	RfC candidates	VTR
<p>↘ poids du thymus chez des souris femelles B6C3F1 pendant 30 semaines par ingestion dans l'eau</p> <p>Keil <i>et al.</i> (2009)</p>	<p>LOAEL = $0,35 \text{ mg/kg/j}$</p> <p><i>Transformation en dose interne (modèle PBPK) → POD interne</i> $0,139 \text{ mg TCE oxydé/kg}^{3/4}/\text{j}$</p> <p><i>Extrapolation voie à voie + ajustement allométrique (modèle PBPK) → $\text{LOAEC}_{\text{HEC99}}$</i> $0,19 \text{ mg/m}^3$</p>	<p>100</p> <p>$\text{UF}_L = 10$ $\text{UF}_A = \sqrt{10}$ $\text{UF}_H = \sqrt{10}$ $\text{UF}_S = 1$</p>	<p>$0,0019 \text{ mg.m}^{-3}$ ($0,00033 \text{ ppm}$)</p>	$0,002 \text{ mg.m}^{-3}$
<p>↗ malformations cardiaques fœtales chez rats SD exposés de GD1 – 22 par ingestion dans l'eau</p> <p>Johnson <i>et al.</i> (2003)</p>	<p><i>Calcul BMC + transformation en dose interne (modèle PBPK) → BMD_{01L}</i> $0,0142 \text{ mg TCE oxydé/kg}^{3/4}/\text{j}$</p> <p><i>Extrapolation voie à voie + ajustement allométrique (modèle PBPK) → $\text{BMC}_{01L\text{HEC99}}$</i> $0,021 \text{ mg/m}^3$</p>	<p>10</p> <p>$\text{UF}_L = 1$ $\text{UF}_A = \sqrt{10}$ $\text{UF}_H = \sqrt{10}$ $\text{UF}_S = 1$</p>	<p>$0,0021 \text{ mg.m}^{-3}$ ($0,00037 \text{ ppm}$)</p>	

4.3.1.2 VTR de l'OEHHA

L'OEHHA a proposé en 2000 un REL de $0,6 \text{ mg.m}^{-3}$ basé sur une étude humaine de 1973 (Vandevort et Polnkoff, 1973, cité dans OEHHA, 2009). Dix-neuf (19) travailleurs (de 40 ans en moyenne) ont été exposés à 170 à 420 mg.m^{-3} (32 – 78 ppm) de vapeurs de TCE dans une salle des machines pendant 8 ans en moyenne. Les travailleurs ont déclaré les symptômes suivants : sensation d'irritation oculaire (73 %), somnolence (70 %), palpitations cardiaques (58 %), toux

²³ L'US EPA a appliqué un UF de 100 détaillé comme suit :

- $\text{UF}_L = 10$ est appliqué car le point de départ est un LOAEC ;
- $\text{UF}_A = \sqrt{10}$ pour prendre en compte la composante toxicodynamique. L'utilisation d'un modèle PBPK pour extrapoler des doses internes de la souris à l'Homme réduit les incertitudes sur la composante toxicocinétique mais ne prend pas en compte la possibilité que l'Homme soit plus sensible que la souris du fait de différences toxicodynamiques ;
- $\text{UF}_H = \sqrt{10}$ pour prendre en compte les possibles différences toxicodynamiques de sensibilité chez l'Homme. Le modèle PBPK Homme utilise les meilleures informations disponibles sur les variabilités toxicocinétiques mais ne prend pas en compte la possibilité que l'Homme soit plus sensible que le rat du fait de différences toxicodynamiques ;
- $\text{UF}_S = 1$ est appliqué car l'exposition est considérée comme chronique.

(58 %), asthénie (53 %) et vertiges (52 %). Environ la moitié des travailleurs exposés a également rapporté une consommation d'alcool en dehors du travail. Chez un seul travailleur exposé, aucun effet adverse n'a été constaté, ainsi que chez les 9 travailleurs témoins. Le trichloroéthanol et le TCA ont été mesurés dans les urines des 19 travailleurs exposés et des 9 travailleurs témoins, avant et après la journée de travail. Les valeurs de TCOH s'échelonnaient de 4 à 260 mg.L⁻¹ et ceux de TCA de 4 à 197 mg.L⁻¹. L'OEHHA a utilisé la valeur basse des concentrations mesurées dans l'atmosphère comme une LOAEC, à 170 mg.m⁻³ (soit 32 ppm). Cette LOAEC a été ajustée sur une durée d'exposition continue et le volume respiratoire ($LOAEC_{ADJ} = 32 \times 10 \text{ m}^3/20 \text{ m}^3 \times 5/7 = 11,4 \text{ ppm}$). Un facteur d'incertitude de 100 a été appliqué pour tenir compte de la variabilité interindividuelle humaine ($UF_H = 10$) et de l'utilisation d'une LOAEC ($UF_L = 10$).

Tableau 27 : VTR chroniques à seuil du TCE pour des expositions par inhalation (OEHHA, 2008)

Effet critique et études sources	Concentration critique	UF	Valeur VTR
Neurotoxicité (fatigue, irritation oculaire, maux de tête) chez des travailleurs exposés de manière discontinue pendant 8 ans Vandervort and Polnkoff (1973)	LOAEC = 32 ppm <u>Ajustement temporel</u> $LOAEC_{ADJ} = 32 \times 10/20 \times 5/7 = 11,4 \text{ ppm}$	100 $UF_L = 10$ $UF_H = 10$	0,6 mg.m⁻³ (0,1 ppm)

4.3.1.3 VTR de l'ATSDR

En 1997, l'ATSDR n'a pas construit de VTR pour des expositions chroniques, précisant que les études étaient inadéquates (pas de caractérisation des expositions, pas de quantification, peu d'effets pertinents à prendre en compte).

Dans son document de travail de 2014, l'ATSDR reprend la RfC de l'US EPA (2011) (ATSDR, 2014 draft).

4.3.1.4 VTR du RIVM

Le RIVM a proposé en 2001 une VTR provisoire de 0,2 mg.m⁻³, basé sur l'étude de Kjellstrand *et al.* (1983, cité dans RIVM, 2001) chez la souris. Des souris ont été exposées, en continu, par inhalation, pendant 30 jours, à 0 – 37 – 75 – 150 et 300 ppm (0 – 200 – 405 – 810 et 1620 mg.m⁻³). À 37 ppm, une modification du ratio entre le poids du foie et le poids corporel a été mise en évidence et a été choisie comme effet critique. Le RIVM a donc considéré qu'il n'y avait pas de NOAEC et a choisi comme LOAEC la valeur de 37 ppm, soit 200 mg.m⁻³. Un facteur d'incertitude global de 1 000 a été appliqué pour tenir compte de la variabilité interespèce ($UF_A = 10$), de la variabilité interindividuelle humaine ($UF_H = 10$) et de l'utilisation d'une LOAEC ($UF_L = 10$), témoignant d'un faible indice de confiance pour la construction de cette VTR.

Tableau 28 : VTR chroniques à seuil du TCE pour des expositions par inhalation (RIVM, 2001)

Effet critique et études sources	Concentration critique	UF	Valeur VTR
Hépatotoxicité (modification du ratio entre le poids du foie et le poids corporel) observé chez souris exposés 30 jours Kjellstrand <i>et al.</i> (1983)	LOAEC = 37 ppm (200 mg.m ⁻³)	1000 UF _A = 10 UF _H = 10 UF _L = 10	VTR provisoire 0,2 mg.m ⁻³

4.3.2 VTR sans seuil pour les effets cancérigènes

4.3.2.1 VTR de Santé Canada

Le TCE a fait l'objet d'une évaluation dans le cadre de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement en 1993, laquelle a abouti à la détermination d'une concentration tumorigène CT_{0,05} de 82 mg.m⁻³ (Santé Canada, 1993).

Cette CT_{0,05} a été établie à partir de plusieurs études expérimentales mettant en évidence une augmentation de l'incidence des tumeurs des cellules de Leydig chez des rats Sprague-Dawley (avec et sans correction du nombre d'animaux vivants au moment de l'apparition de la première tumeur des cellules de Leydig) (Maltoni *et al.*, 1988). Un modèle linéaire multi-étape a été utilisé afin de calculer la concentration de TCE entraînant une augmentation de 5% de l'incidence des tumeurs. Cette concentration était de 101,9 ppm (556,4 mg.m⁻³) après ajustement au nombre d'animaux encore vivants à l'apparition de la première tumeur des testicules et de 112,6 ppm sans ajustement. Ces concentrations ont été ajustées au temps (7h/24h x 5j/7j) et ont tenu compte du ratio du volume inhalé sur le poids corporel pour la population la plus sensible, c'est-à-dire un enfant de 5 à 11 ans aboutissant à des CT_{0,05} respectivement de 87 mg.m⁻³ et 91 mg.m⁻³.

Santé Canada a également calculé des CT_{0,05} en se basant sur l'augmentation de l'incidence :

- Des adénomes et carcinomes pulmonaires chez des souris ICR femelles (Fukuda *et al.*, 1983) aboutissant à une CT_{0,05} de 140 mg.m⁻³ après ajustement temporel ;
- Des adénomes pulmonaires et adénomes et carcinomes chez des souris B6C3F1 femelles (Maltoni *et al.*, 1988) aboutissant après ajustement temporel à une CT_{0,05} de 190 ou 200 mg.m⁻³ avec et sans correction du nombre d'animaux vivants au moment de l'apparition de la première tumeur pulmonaire.

Bien qu'un modèle PBPK tenant compte du pourcentage de TCE métabolisé ait été développé (US EPA, 1988 ; California Air Resources Board, 1990 cité dans Santé Canada, 1993), celui-ci n'a pas été utilisé car les « métabolites cancérigènes prétendus » n'ont pas été identifiés. Santé Canada n'a également pas utilisé de facteur allométrique tenant compte des différences de surfaces corporelles entre le rongeur et l'Homme, précisant que les métabolites étaient responsables de la toxicité.

En utilisant le modèle linéaire multi-étapes, les estimations effectuées conduisent à des TC_{0,05} de 82 mg.m⁻³ (pour les tumeurs des cellules de Leydig) à 200 mg.m⁻³ (pour les adénomes pulmonaires). La valeur la plus faible a été retenue comme VTR.

Dans son rapport de 2011 relatif aux valeurs guides dans l'air intérieur, l'INSPQ indique que cette CT_{0,05} basée sur l'incidence de cancer testiculaire a été rejetée par Santé Canada en 2006 lors de l'élaboration de sa VGAI provisoire car il n'y a pas de données épidémiologiques qui semblent

corroborer cet effet du TCE chez l'Homme et car les données toxicologiques récentes n'ont pas considéré le cancer des testicules comme un effet critique chez l'Homme (INSPQ, 2011). Santé Canada a considéré 3 autres VTR, valeurs publiées dans le cadre de sa recommandation pour la qualité de l'eau potable (Santé Canada, 2005) :

1. Un excès de risque unitaire de $1,2 \cdot 10^{-7} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ basé sur des adénocarcinomes des tubules rénaux observés chez des rats mâles exposés au TCE par voie respiratoire (Maltoni *et al.*, 1988) (Santé Canada, 2006).
2. Deux études ont mis en évidence une augmentation de l'incidence de tumeurs rénales chez des rats mâles exposés par voie orale (NTP 1988 et 1990). Un excès de risque unitaire par voie orale de $8,1 \cdot 10^{-4} (\text{mg}/\text{kg}/\text{j})^{-1}$ a été calculé et a été transformé en risque unitaire par voie respiratoire de $1,8 \cdot 10^{-7} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ en considérant un taux d'inhalation ($15,8 \text{ m}^3/\text{j}$) et un poids corporel moyen ($70,7 \text{ kg}$).
3. La troisième VTR évaluée par Santé Canada correspond à un effet non cancérigène, soit l'augmentation de l'incidence de malformations cardiaques observée chez la progéniture de rates Sprague-Dawley exposée au TCE par voie orale avant et pendant la gestation (Dawson *et al.*, 1993 cité dans Santé Canada, 2005. À partir d'une BMDL₁₀ de $0,146 \text{ mg}/\text{kg}/\text{j}$, une dose journalière admissible (DJA) de $1,46 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ a été établie (Santé Canada, 2005). Cette dose a ensuite été extrapolée à une concentration dans l'air intérieur ($5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) en utilisant un facteur d'absorption de 80 %, un poids corporel de $70,7 \text{ kg}$ et un taux d'inhalation équivalent à $15,8 \text{ m}^3/\text{j}$ (Santé Canada, 2005).

Santé Canada a finalement établi sa VGAI provisoire selon ce dernier calcul puisque la valeur de $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ protège à la fois contre les effets tératogènes et cancérigènes (Santé Canada, 2006).

Tableau 29 : Construction de CT_{0,05} par Santé Canada (Santé Canada, 1993)

Méthode de construction	Effets critiques	Modélisation	Références	Valeur
Modélisation de plusieurs sets de données expérimentales	Tumeurs des testicules chez des rats Sprague-Dawley	LMS (données non corrigées) CT _{0,05} = 82 mg.m ⁻³	Maltoni <i>et al.</i> , 1988	CT_{0,05} = 82 mg.m⁻³ Enfants de 5-11 ans VTR rejetée par Santé Canada en 2005
		LMS (nombre d'animaux en vie au moment de l'apparition de la 1 ^{ère} tumeur des testicules) CT _{0,05} = 91 mg.m ⁻³		

4.3.2.2 VTR de l'OEHHA

L'OEHHA a construit un Inhalation Unit Risk de $2 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ (Tableau 30).

En 1990, le *California Department of Health Services (CDHS)* a conclu que le TCE était cancérigène sans seuil. L'excès de risque est basé sur 4 études toxicologiques chez la souris : Bell *et al.* (1978, non publiée) ; Henschler *et al.* (1980) ; Fukada *et al.* (1983) et Maltoni *et al.* (1988). Ces études ont mis en évidence des adénomes et carcinomes hépatocellulaires chez la souris mâle et des adénocarcinomes pulmonaires et des lymphomes malins chez la souris femelles (incidence).

Tableau 30 : Données sur les relations dose-réponse utilisées pour l'évaluation quantitative du risque par le CDHS (OAHHE, 2009)

Étude Espèce (sexe) Souche	Type de tumeur	Concentration expérimentale administrée tous les jours	Dose métabolisée ¹ (mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹)	Incidence des tumeurs ²
Bell <i>et al.</i>, 1978³ Souris (mâle) B6C3F1	Adénome et carcinome hépatocellulaire	0 ppm – 6h 100 ppm – 6h 300 ppm – 6h 600 ppm – 6h	0 42,3 127 254	20/99 35/95 38/100 53/97
Henschler <i>et al.</i>, 1980 Souris (mâle) Han:NMRI	Lymphome malin	0 ppm – 6h 100 ppm – 6h 500 ppm – 6h	0 33,2 166	9/29 17/30 18/28
Fukuda <i>et al.</i>, 1983 Souris (femelles) ICR	Adénocarcinome pulmonaire	0 ppm – 7h 50 ppm – 7h 150 ppm – 7h 450 ppm – 7h	0 25,8 77,4 232	1/49 3/50 8/50 7/46
Maltoni <i>et al.</i>, 1988 Souris (mâle) Swiss	Hépatome malin	0 ppm – 7h 100 ppm – 7h 300 ppm – 7h 600 ppm – 7h	0 35,3 106 212	4/90 2/90 8/90 13/90

¹ Dose métabolisée moyennée sur le temps et vie entière (LTWA = LifeTime-Weighted Average)

² Le dénominateur des incidences de tumeurs exclu les animaux décédés avant le temps estimé nécessaire pour l'apparition du type de tumeurs en question tel observé dans les études du National Cancer Institute (1976) et du NTP (1983).

³ Étude non publiée.

La dose de TCE métabolisée a été prise en compte dans l'évaluation car elle inclut des facteurs d'absorption et de distribution et de ce fait reflète la dose administrée (TCE absorbé complètement métabolisé) ; elle a été estimée par un modèle PBPK (Ramsey and Anderson, 1984 cité dans OEHHA, 2009). Le risque unitaire a été modélisé (modèle linéaire multi-étapes) à partir de la dose métabolisée. Un ajustement temporel pour passer d'une exposition chez l'animal à une concentration moyenne vie entière a été réalisé et une concentration équivalente humaine a été calculée (personne de 70 kg respirant 20 m³.j⁻¹) pour la population générale. Pour améliorer l'estimation du risque unitaire, la moyenne géométrique des risques unitaires issus des 4 études toxicologiques a été calculée. Un risque unitaire de 2.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹ a été calculé à partir de l'approche utilisant les doses métabolisées et de 3.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹ en se basant sur les concentrations administrées. Le CDHS a choisi l'inhalation Unit risk calculé à partir des doses métabolisées.

Tableau 31 : Construction de l'inhalation unit risk par l'OEHHA (OEHHA, 2009)

Méthode de construction	Effets critiques	Modélisation	Références	Valeur
Modélisation de plusieurs sets de données expérimentales	<u>Souris mâle</u> : Adénomes et carcinomes hépatocellulaires <u>Souris femelle</u> : adénocarcinomes pulmonaires et lymphomes malins	PBPK LMS	Bell <i>et al.</i> , 1978 ; Henschler <i>et al.</i> , 1980 ; Fukuda <i>et al.</i> , 1983 et Maltoni <i>et al.</i> , 1988	ERU = 2.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹

4.3.2.3 Valeur guide de l'OMS

En 2000, l'OMS a proposé un excès de risque unitaire (ERU) de $4,3 \cdot 10^{-7} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ pour une durée d'exposition vie entière et en vue de protéger la population générale des effets cancérigènes du TCE (OMS, 2000 et 2010). L'ERU est fondé sur deux études expérimentales animales conduites par Maltoni *et al.* (1988), considérées comme les plus solides à l'OMS :

- 130 rats Sprague Dawley des deux sexes ont été exposés par inhalation à 0 – 270 – 810 et 2 430 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ de TCE d'une pureté de 99,8 %, contenant 0,2 % d'un mélange de benzène et d'épichlorhydrine, pendant 104 semaines, 7 heures par jour et 5 jours par semaine. Les observations ont été conduites jusqu'à la 107^{ème} semaine. Des adénocarcinomes des tubules rénaux ont été mis en évidence, associés préalablement à des lésions nucléaires des cellules épithéliales des tubules (karyomégalies), uniquement chez les mâles, et à la concentration la plus forte : l'incidence était de 4/130 pour 1/130 chez les témoins. Des tumeurs des cellules de Leydig ont également été mises en évidence avec une relation dose-réponse (incidence de 1/135 (0,7 %) chez les témoins, 16/130 (12 %) à 270 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$, 30/130 (23 %) à 810 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ et 31/130 (24 %) à 2 430 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$) (Maltoni *et al.*, 1988) ;
- 90 souris B6C3F1 et Swiss des deux sexes ont été exposées par inhalation à 0 – 540 – 1620 et 3 240 $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ de TCE d'une pureté de 99,9 % (sans époxyde), 7 heures par jour et 5 jours par semaine pendant 78 semaines. Les observations ont été conduites jusqu'à la mort des animaux (vie entière). Des adénomes pulmonaires ont été mis en évidence uniquement chez les femelles B6C3F1 et des adénomes et carcinomes chez les mâles Swiss, avec une relation dose-réponse (4/90 chez les témoins, *versus* 6/90, 10/90 et 15/90 pour les femelles ; 10/90 chez les témoins, *versus* 11/90, 23/90 et 27/90 pour les mâles). Des adénocarcinomes hépato-cellulaires ont été mis en évidence chez les mâles et les femelles B6C3F1 et chez les mâles Swiss (B6C3F1 : 14/90 pour les témoins mâles, *versus* 19/90, 27/90 et 21/90 pour les exposés ; 3/90 pour les témoins femelles, *versus* 4/90, 4/90 et 9/90 pour les exposés ; Swiss : 4/90 *versus* 2/90, 8/90 et 13/90) (Maltoni *et al.*, 1988).

L'OMS a estimé plusieurs ERU à partir d'une modélisation « LMS » (utilisation du modèle « Linearized Multistage ») des données de cancérogenèse du rat et de la souris, en utilisant le type de tumeurs le plus sensible et pour lequel une augmentation de l'incidence a été observée chez les individus exposés par rapport aux témoins :

- pour l'augmentation de l'incidence des adénomes et carcinomes pulmonaires chez les souris Swiss, l'ERU obtenu était de $9,3 \cdot 10^{-8}$;
- pour l'augmentation de l'incidence des tumeurs des cellules de Leydig chez les rats Sprague-Dawley, l'ERU obtenu était de $4,3 \cdot 10^{-7}$.

L'OMS a choisi de retenir l'ERU de $4,3 \cdot 10^{-7}$ calculé chez le rat, fondé sur l'augmentation de l'incidence des tumeurs de cellules de Leydig. Cette espèce a été considérée plus proche de l'Homme que la souris lors d'une exposition au TCE. Ce choix est conforté par les données mécanistiques précisant que la capacité du poumon de l'homme à transformer le TCE en hydrate de chloral serait négligeable par rapport à celle de la souris.

En 2016, l'OMS a indiqué que cet ERU pourrait nécessiter une réévaluation puisqu'il est d'un ordre de grandeur plus faible que celui proposée dans des évaluations plus récentes, telle que celle de l'US EPA (2011).

Tableau 32 : Excès de risque unitaire du TCE pour des expositions par inhalation construite par l'OMS (OMS, 2000 et 2010)

Méthode de construction	Effet critique	Modélisation	Références	Valeur VTR
Modélisation de plusieurs sets de données expérimentales	<u>Rat Sprague Dawley</u> : tumeurs des cellules de Leydig Incidences : 1/135 (témoins), 16/130 (270 mg.m ⁻³), 30/130 (810 mg.m ⁻³), 31/130 (4 300 mg.m ⁻³)	LMS ERU = 4,3.10 ⁻⁷ (µg.m ⁻³) ⁻¹	Maltoni <i>et al.</i> , 1988	ERU = 4,3.10 ⁻⁷ (µg.m ⁻³) ⁻¹ Concentrations associées à plusieurs niveaux de risque : 10 ⁻⁴ : 230 µg.m ⁻³ 10 ⁻⁵ : 23 µg.m ⁻³ 10 ⁻⁶ : 2,3 µg.m ⁻³
	<u>Souris Swiss mâles</u> : adénomes et carcinomes pulmonaires Incidences : 10/90 (témoins), 11/90 (540 mg.m ⁻³), 23/90 (1 620 mg.m ⁻³) et 27/90 (3 240 mg.m ⁻³)	LMS ERU = 9,3.10 ⁻⁸ (µg.m ⁻³) ⁻¹	Maltoni <i>et al.</i> , 1988	

4.3.2.4 VTR de l'US EPA

Comme pour les effets à seuil, l'US EPA a construit des excès de risque unitaire (ERU) à partir de toutes les études mettant en évidence une relation dose-réponse pour des effets cancérigènes.

À partir des études de cancérogénèse par inhalation chez les rongeurs, l'US EPA a calculé des ERU candidats en transformant la concentration critique issue des études en concentrations interne puis en effectuant un ajustement allométrique (modèle PBPK) et une extrapolation aux faibles doses par le modèle LMS.

Tableau 33 : ERU candidats calculés à partir d'études de cancérogénèse chez le rongeur

Espèces	Effet	Étude	ERU (ppm ⁻¹)
Souris femelle	Lymphome	Henschler <i>et al.</i> , 1980 0 – 540 – 2700 mg.m ⁻³ 6h/j, 5j/sem – 78 semaines Observations jusqu'à la semaine 130 TCE purifié sans époxyde	10 ⁻²
Souris mâle	Hépatome	Maltoni <i>et al.</i> , 1988 0 – 547 – 1640 – 3280 mg.m ⁻³ (0 – 100 – 300 – 600 ppm) 7h/j, 5j/sem. – 78 semaines Observations vie entière Pureté du TCE 99,9% sans époxyde	2,6.10 ⁻³
Rat mâle	Leucémie + adénomes et carcinomes rénaux + tumeurs des cellules de Leydig	Maltoni <i>et al.</i> , 1988 0 – 547 – 1640 – 3280 mg.m ⁻³ (0 – 100 – 300 – 600 ppm) 7h/j, 5j/sem – 104 semaines Observations vie entière TCE pureté 99,9% sans époxyde	8,3.10 ⁻²

L'US EPA a également proposé un ERU en partant d'une étude épidémiologique présentant des données suffisantes pour réaliser une évaluation de la relation dose-réponse : Charbotel *et al.* (2006).

Parmi les études épidémiologiques sur le TCE et le cancer, selon l'US EPA, seules deux études cas-témoins disposaient de suffisamment d'information sur la relation dose-réponse : Charbotel *et al.* (2006) et Moore *et al.* (2010). Ces deux études présentaient des estimations quantitatives de l'exposition cumulée. Cependant, l'estimation de l'exposition était plus précise dans l'étude de

Charbotel *et al.* (2006) que dans l'étude de Moore *et al.* (2010). En effet, dans l'étude de Moore *et al.* (2010), les estimations de l'exposition cumulée ont été faites par des experts, sur la base de mesures de la fréquence et de l'intensité de l'exposition par catégorie et non de mesures continues. Ces auteurs ont également utilisé une mesure de la probabilité de l'exposition par catégorie pour classer différents emplois, en raison du risque d'erreur de classification de l'exposition découlant de cette approche. L'étude de Charbotel *et al.* s'est appuyée sur une matrice emploi-exposition basée sur des décennies de mesures au sein d'ateliers de la vallée de l'Arve (Fevotte *et al.*, 2006). Ainsi, l'étude de Charbotel *et al.* (2006) a été choisie comme étude clé pour le calcul d'un excès de risque unitaire de cancer du rein par inhalation.

Charbotel *et al.* ont réalisé une étude cas-témoins dans la vallée de l'Arve (France) où des niveaux élevés d'exposition ont été observés afin de tester l'association entre l'exposition au TCE et le cancer du rein (Charbotel *et al.*, 2006). Cette étude a inclus 86 cas de carcinomes de cellules rénales identifiés rétrospectivement et prospectivement par des urologues et des praticiens hospitaliers et 316 témoins appariés sur l'âge et le sexe. Une association significative entre le cancer du rein et une forte exposition au TCE a été mise en évidence. Pour les concentrations cumulées les plus élevées chez les travailleurs exposés plus d'un an, ce risque après ajustement sur le tabac et l'indice de masse corporelle (IMC) est significativement augmenté (OR = 2,16 ; IC_{95%} = 1,02–4,60). Une relation dose-réponse est constatée entre l'exposition cumulée et l'apparition de cancer rénal (Tableau 34). Cependant, l'exposition au TCE est fortement associée à l'exposition aux huiles de coupe et aux solvants pétroliers. Lorsque ces co-expositions sont prises en compte, l'association entre cancer du rein et exposition au TCE persiste mais n'est plus statistiquement significative (OR = 1,96 ; IC_{95%} = 0,71-5,37).

Tableau 34 : Relation dose-réponse entre l'exposition cumulée au TCE et l'apparition de cancer rénal (Charbotel *et al.*, 2006 ; US EPA, 2011)

Catégories d'exposition cumulée ¹	Exposition cumulée moyenne (ppm x an) ²	OR ajusté (IC _{95%}) ³
Non exposés		1
Faible	62,4	1,62 (0,75-3,47)
Moyen	253,2	1,15 (0,47-2,77)
Fort	925,0	2,16 (1,02-4,60)*

* statistiquement significatif

¹ Faible = 1-150 ppm x années ; Moyen = 155-335 ppm x années ; Fort : >335 ppm x années. Les expositions médianes étaient estimées chez les témoins de 60, 252 et 630 ppm respectivement pour les 3 catégories et chez les cas de 30, 300 et 885 ppm.

² Données transmises par le Dr Charbotel à l'US EPA

³ Ajustements : tabac, indice de masse corporelle

Une association entre l'apparition du cancer du rein et l'exposition au TCE a été également mise en évidence pour la plus forte exposition associée à des pics d'exposition (OR = 2,73 ; IC_{95%} = 1,06-7,07) après ajustement sur le tabac et l'IMC (Tableau 35). Cependant, comme précédemment, après ajustement sur l'exposition aux huiles de coupe et pétrole, l'augmentation du risque de cancer rénal lié à une forte concentration cumulée est toujours importante mais n'est plus statistiquement significative (OR = 2,63 ; IC_{95%} = 0,79-8,83).

Tableau 35 : Relation entre l'exposition cumulée au TCE et les cancers du rein (Charbotel *et al.*, 2006)

Catégorie d'exposition	Cas	Témoins	OR ajusté (IC _{95%}) ¹	OR ajusté (IC _{95%}) ²
Non exposés	49	206	1	1
Faible/moyen, pas de pic	18	65	1,35 (0,69-2,63)	Non indiqué
Faible/moyen + pic	3	8	1,61 (0,36-7,30)	Non indiqué
Haut, pas de pic	8	23	1,76 (0,65-4,73)	1,96 (0,71-5,37)
Haut + pic	8	14	2,73 (1,06-7,07)	2,63 (0,79-8,83)

¹ Ajustement : tabac, IMC, 2 : Ajustement : tabac, IMC et exposition aux huiles de coupe et pétrole

Dans une seconde publication, les auteurs ont évalué l'effet potentiel de l'exposition aux huiles de coupe comme facteur de confusion (Tableau 36) et soulignent le fait que de nombreux travailleurs ont été exposés au TCE dans des ateliers de décolletage où les huiles de coupe sont largement utilisées. Il est donc difficile de dissocier les effets de ces 2 expositions. L'exposition aux huiles de coupe seules ou au TCE seul (dans cette dernière hypothèse, les individus concernés étaient le plus souvent exposés à moins de 35 ppm) n'est pas associée à une augmentation significative du risque de cancer du rein. En revanche, une augmentation significative du risque de cancer du rein est observée chez les travailleurs exposés aux huiles de coupe et à au moins 50 ppm de TCE ce qui, selon les auteurs, est plutôt en faveur d'un effet prépondérant du TCE à forte concentration. Il n'est, néanmoins, pas possible d'exclure un effet conjoint de l'exposition au TCE et huiles de coupe.

Tableau 36 : Analyse du risque de cancer du rein en fonction de l'exposition aux huiles de coupe et au TCE (Charbotel *et al.*, 2009)

Catégorie d'exposition	Cas (n = 86)	Témoins (n = 316)	OR brut (IC _{95%})	OR ajusté (IC _{95%}) ¹
Non exposés aux 2	46	200	1	1
Huiles de coupe seules	3	6	2,35 (0,54-10,27)	2,39 (0,52-11,03)
TCE seul	15	46	1,54 (0,77-3,08)	1,62 (0,76-3,44)
TCE <50 ppm + huiles de coupe	12	47	1,27 (0,61-2,63)	1,14 (0,49-2,66)
TCE ≥50 ppm + huiles de coupe	10	17	3,09 (1,27-7,52)	2,7 (1,02-7,17)

¹ Ajustement : tabac, indice de masse corporel et exposition aux autres huiles

Les données issues de la publication de Charbotel *et al.* (2006) ont donc été utilisées par l'US EPA pour dériver un excès de risque unitaire pour le cancer du rein pour une exposition environnementale continue au TCE.

Un modèle de régression linéaire a été utilisé pour modéliser les données issues de l'étude de Charbotel *et al.* et a permis d'obtenir une estimation de la pente pour le RR du cancer du rein induit par une exposition cumulée au TCE.

Cette fonction dose-réponse linéaire, associée à l'utilisation de tables de survie américaine pour estimer le taux d'incidence « de fond » de cancer rénal (R₀), et après conversion des données d'exposition professionnelle en exposition environnementale (240/365 jours x 10/20 m³/j) a été utilisée pour estimer le niveaux d'exposition correspondant à un risque additionnel (« extra risk ») de 1% (EC₀₁) à partir des données d'exposition du Tableau 34.

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Lorsque l'étude clé est une étude épidémiologique, il est recommandé d'utiliser un risque additionnel²⁴ de 1%. L'US EPA a choisi la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% comme point de départ ($EC_{01} = 3,87$ ppm, $LEC_{01} = 1,82$ ppm) puis a réalisé une extrapolation linéaire à l'origine afin d'obtenir un risque unitaire ($1\%/LEC_{01} = 5,49 \cdot 10^{-3}$ (ppm)⁻¹). Selon l'US EPA, les preuves sont suffisantes pour conclure que le cancer du rein induit par le TCE est dû à un mode d'action mutagène ce qui appuie le choix de réaliser une extrapolation aux faibles concentrations.

L'US EPA a enfin effectué un ajustement (facteur 4 multiplicatif) de l'excès de risque calculé pour le cancer du rein pour prendre en compte le risque potentiel de tumeurs sur des sites multiples (foie et voies biliaires, lymphome non Hodgkinien – données provenant d'autres études) et obtient alors un excès de risque unitaire pour tous types de cancer de $2,2 \cdot 10^{-2}$ (ppm)⁻¹ ou $4 \cdot 10^{-6}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$)⁻¹ (Tableau 37).

Cette démarche est résumée dans la figure ci-dessous :

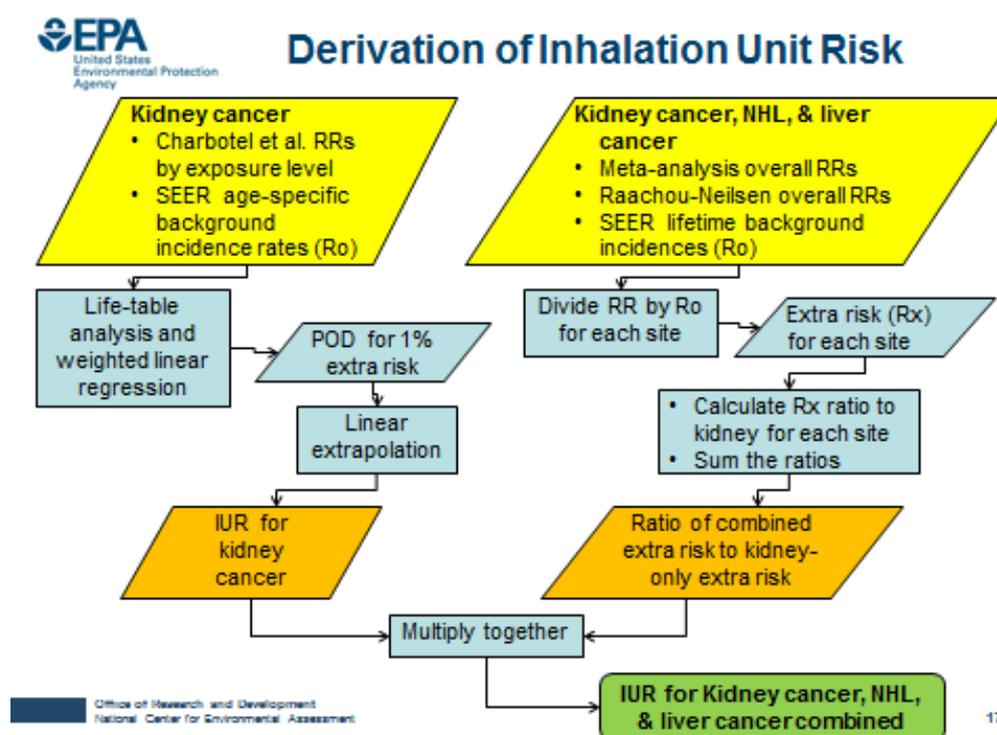


Figure 3 : Résumé de la démarche de construction d'excès de risque unitaire de l'US EPA

²⁴ Extra risk = $(R_x - R_0) / (1 - R_0)$, Avec R_x : Risque vie entière dans la population exposée, R_0 : Risque vie entière dans la population non exposée

Le cancer du rein étant un évènement rare, les OR peuvent être utilisés comme des estimations des ratios de risque relatif ($RR = R_x/R_0$)

Tableau 37 : Excès de risque unitaire élaboré par l'US EPA (2011)

Effet critique et étude source	Méthode de construction	Valeur VTR
Carcinome rénal, lymphome non Hodgkinien et tumeurs hépatiques Charbotel <i>et al.</i> , 2006	Régression linéaire avec utilisation de tables de survie américaine, estimation de taux d'incidence « de fond » de cancer rénal, et conversion des données d'exposition professionnelle en exposition environnementale → $POD = LEC_{01} = 1,82 \text{ ppm}$ Extrapolation linéaire à l'origine → $ERU_{\text{cancer rein}} = 5,49 \cdot 10^{-3} (\text{ppm})^{-1}$ Ajustement de l'excès de risque calculé pour cancer du rein sur le risque potentiel de tumeurs sur des sites multiples (foie, lymphome non Hodgkinien) (facteur 4 : calculs basés sur US EPA, 2011; Raaschou-Nielsen <i>et al.</i> , 2003)	$4,1 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ ($2,2 \cdot 10^{-2} (\text{ppm})^{-1}$) Concentrations associées à plusieurs niveaux de risque : 10^{-4} : $20 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ ($3,7 \cdot 10^{-3} \text{ ppm}$) 10^{-5} : $2 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ ($3,7 \cdot 10^{-4} \text{ ppm}$) 10^{-6} : $0,2 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ ($3,7 \cdot 10^{-5} \text{ ppm}$)

L'US EPA recommande l'application de facteurs spécifiques pour calculer les risques cancérigènes chez les enfants ou ADAF (Age Dependent Adjustment Factor) pour les cancérigènes mutagènes car :

- le poids de la preuve est suffisant pour conclure à un mode d'action mutagène pour les cancers rénaux,
- il n'existe pas de données spécifiques pour évaluer les différences de sensibilité,
- le manque de données suggère l'absence d'expression de GSTT1 chez les nouveau-nés. En effet, le métabolisme du TCE implique entre autre le CYP et la GST dont l'expression varie selon les stades de développement fœtal (Shao *et al.*, 2007 ; Dorne *et al.*, 2005 ; Hines et McCarver, 2002 ; Hakkola *et al.*, 1998a et b ; van Lieshout *et al.*, 1998 ; Hakkola *et al.*, 1996a et b cités dans US EPA, 2011) et pendant le développement post-natal (Blake *et al.*, 2005 ; Dorne *et al.*, 2005 ; Tateishi *et al.*, 1997 cités dans US EPA, 2011). Cela pourrait altérer la sensibilité au TCE.

L'US EPA recommande d'appliquer cet ADAF uniquement pour les cancers rénaux pour lesquels le poids de la preuve est suffisant pour conclure à un mode d'action mutagène. Cependant, il est possible que le TCE agisse *via* un mode d'action mutagène pour d'autres types de cancer ou *via* d'autres mécanismes d'action qui serait compatible avec une plus grande sensibilité chez les enfants.

Ce facteur prend les valeurs par défaut suivantes selon les classes d'âge :

- 10 pour les enfants de moins de 2 ans,
- 3 pour les enfants de 2 ans à 15 ans,
- 1 à partir de 16 ans.

Il ne s'applique pas lors de la construction de la VTR mais lors du calcul de risque considérant qu'il existe une sensibilité particulière au TCE lors d'une exposition des enfants.

4.3.2.5 VTR de l'ECHA

L'ECHA a réalisé une revue des VTR (voie orale et respiratoire) et VLEP cancérigènes établies depuis 2000 (OMS, 2000, 2005 et 2010 ; AGS, 2008 ; SCOEL, 2009 ; US EPA, 2011) afin de proposer différentes DNEL (ECHA, 2014).

L'ECHA considère que le TCE est un cancérigène sans seuil. Les études épidémiologiques se sont focalisées sur les cancers rénaux et sur la formation de métabolites génotoxiques dans les reins chez l'Homme (DCVG et DCVC) afin de caractériser le danger du TCE. Ainsi, les données humaines sur la formation de carcinomes rénaux dans un environnement professionnel ont été considérées comme pertinentes pour établir une relation dose-réponse.

Les études épidémiologiques ont mis en évidence une augmentation du risque de cancers rénaux en lien avec de fortes expositions professionnelles incluant des pics d'exposition conduisant à des réponses cytotoxiques responsables des lésions tubulaires rénales. L'effet cytotoxique sur les cellules rénales contribuerait de manière décisive à l'apparition de cancers. Le risque de cancer du rein est considéré comme plus faible en dessous des niveaux d'exposition entraînant une réponse cytotoxique. Ainsi, une relation linéaire surestimerait le risque pour de faibles niveaux d'exposition. L'AGS note également que la génotoxicité locale au niveau rénal ne peut être exclue. Aucun seuil ne peut donc être établi pour le TCE. En se basant sur tous ces éléments, l'ECHA a retenu l'approche de l'AGS, décrite ci-dessous, car celle-ci est la seule approche proposant une relation dose-réponse sans seuil mais sub-linéaire.

En 2008, le comité des substances dangereuses de l'AGS a proposé la construction d'une valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) associée à l'exposition par inhalation des travailleurs au TCE à titre d'exemple au sein d'un guide « Guide for the quantification of cancer risk figures after exposure to carcinogenic hazardous substances for establishing limit values at the workplaces » (AGS, 2008).

L'AGS s'est basé sur 3 études épidémiologiques réalisées en Allemagne :

- Henschler *et al.* (1995)

Une étude de cohorte rétrospective réalisée chez 169 travailleurs (hommes) dans une usine de cartons exposés au TCE au moins 1 an entre 1956 et 1975 (190 témoins), a montré un excès de cancers du rein (5/169, SIR = 9,66 ; IC_{95%} = 3,14-22,55 ; basé sur l'incidence de fond en Allemagne de l'est) (Henschler *et al.*, 1995). Les niveaux d'exposition au TCE n'ont pas été mesurés mais des interviews des employés et une revue des pratiques professionnelles ont suggéré que les travailleurs ont été exposés de façon répétée et continue au TCE (l'entreprise précise que des quantités insignifiantes d'autres solvants ont été utilisées dans l'usine). Les fréquents symptômes ébrio-narcotiques (maux de tête, somnolence, vertiges, nausée) étaient observés à des niveaux d'exposition supérieurs à 200 ppm. La durée moyenne d'exposition des travailleurs était de 214 mois (34-238 mois), soit environ 18 ans. Chez les individus présentant un cancer rénal, la durée moyenne d'exposition était de 15,2 ans et la période de latence moyenne de 28,1 ans.

- Vamvakas *et al.* (1998)

Vamvakas *et al.* ont réalisé une étude cas-témoins en Allemagne (Arnsberg) investiguant l'exposition professionnelle de 58 cas de cancer rénal sur la période 1987-1992 (vs 84 témoins). Les expositions au TCE (interviews des employés) ont été classées en 3 catégories : haute, moyenne et faible en intégrant le temps et la fréquence d'exposition totale et la sévérité des symptômes aigus. Sur les 58 cas, 19 avaient été exposés professionnellement au TCE pendant au moins 2 ans. Cette étude a mis en évidence une association entre exposition au TCE et cancer rénal après ajustement sur l'âge, le sexe, le statut tabagique, l'indice de masse corporelle, la

pression sanguine et la prise de diurétiques (OR = 10,8 ; IC_{95%} = 3,4-34,8 ; 19 cas et 5 témoins). Cependant, comme le souligne l'analyse du NTP 2015, cette étude présente de nombreux défauts méthodologiques (biais de sélection des cas et des témoins, etc.).

- Brüning *et al.* (2003)

Une étude cas-témoins réalisée en milieu hospitalier (Allemagne, à Arnsberg) relative à 134 cas de cancer du rein et 401 témoins sur la période 1992-2000, a été menée pour réévaluer le risque du TCE dans la même région que dans l'étude de Vamvakas *et al.* (1998). L'exposition a été auto-évaluée *via* le même questionnaire utilisé dans la précédente étude. L'historique des activités professionnelles a été analysé en utilisant les informations d'exposition sur la base de jugements d'experts. Après ajustement sur l'âge, le sexe et le tabagisme, une association entre exposition au TCE et cancer rénal a été observée (OR = 2,47 ; IC_{95%} = 1,36-4,49 ; 25 cas et 38 témoins). Une association entre exposition au TCE et cancer rénal a également été mise en évidence chez des travailleurs de l'industrie du dégraissage de métal (OR = 5,57 ; IC_{95%} = 2,33-13,32 ; 15 cas et 11 témoins). Sur les 134 cas de cancer de rein, 19 avaient été exposés à des concentrations entraînant des effets narcotiques (indicatifs de pics d'exposition) et 18 des 401 témoins présentaient des effets similaires (OR = 3,71, IC_{95%} = 1,80-7,54).

Cette étude présente certains défauts méthodologiques notamment de possibles biais de sélection du fait de l'utilisation de cas prévalents (sélectionnés entre 1992 et 2000) et de la sélection des témoins parmi les non-cas résiduels (1999 à 2000). Les témoins ont été appariés aux cas sur le sexe et l'âge et ont été sélectionnés dans les services de chirurgie et de gériatrie dans la même région que les cas (sélectionnées dans le service d'urologie) (NTP, 2015).

En combinant ces 3 études, Roller (2005, étude non publiée, citée dans AGS, 2008) a dérivé un excès de risque de 5% en lien avec une exposition à 100 ppm (18 ans, 6h/j, 3j/sem et 8h/j, 2j/sem) avec pics d'exposition à 500 ppm (18 années d'exposition, 2 h/j et 3 j/sem). Une exposition cumulée de 3000 ppm-années a été utilisée pour la suite des calculs. Ces 3 000 ppm-années correspondent à une concentration moyenne de 75 ppm pendant 40 ans.

Les OR issus des études cas témoins sont souvent statistiquement significatifs dans un intervalle de 2 ou 3, mais des valeurs d'OR plus élevées ont été observées (5,57 dans Brüning *et al.*, 2003 ; 10,8 dans Vamvakas *et al.*, 1998). Les auteurs ont converti les résultats de risque relatif (OR) en valeurs de risque absolu. Les auteurs ont fait l'hypothèse d'un risque de mortalité par cancer du rein vie entière d'environ 0,7% chez l'homme en se basant sur les données de mortalité par cancer de l'OMS en 1990 (hommes : 0,66% ; femmes : 0,42%) et 1997 (hommes : 0,77% ; femmes : 0,48%) (OMS, 2003 cité dans AGS, 2008). Par ailleurs, sur la base des données allemandes sur le cancer du rein (2004), l'estimation des taux d'incidence et de mortalité étaient respectivement de 22,0 et 9,7/100 000 par an pour les hommes et de 15,0 et 6,2/100 000 par an pour les femmes. Les auteurs ont calculé un ratio de 2,3 entre l'incidence et la mortalité. Si ce facteur est appliqué au risque de mortalité par cancer de 0,7%, la valeur de 1,6% correspond au risque absolu d'incidence de cancers rénaux chez l'Homme en Allemagne dans les années 1990. Cette valeur de risque absolu correspond selon les auteurs à un risque relatif de 2 justifiant ainsi un excès de risque de cancer du rein de 5% associé à une exposition cumulée de 3 000 ppm-années.

Les auteurs ont ensuite construit deux modèles d'extrapolation : l'un linéaire et l'autre non linéaire avec la valeur de 5% associée à une exposition cumulée de 3000 ppm-années comme point de départ.

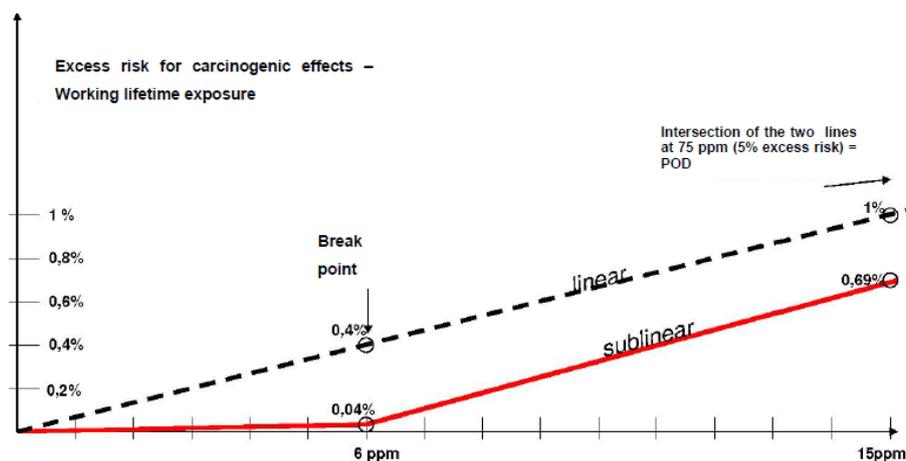


Figure 4 : Relation dose-réponse du TCE (AGS, 2008)

Extrapolation linéaire

La valeur de l'exposition cumulée (3000 ppm-années) a été convertie en exposition moyenne de 75 ppm sur une période de 40 ans qui est utilisée comme point de départ (POD) pour réaliser l'extrapolation linéaire à l'origine.

L'excès de risque (%) correspondant à une extrapolation linéaire se définit par la formule : $0,067 \times \text{concentration (ppm)}$ avec les résultats suivants :

- ER de 10^{-4} → 0,15 ppm ($0,8 \text{ mg.m}^{-3}$)
- ER de 10^{-5} → 0,015 ppm ($8.10^{-2} \text{ mg.m}^{-3}$)
- ER de 10^{-6} → 0,0015 ppm ($8.10^{-3} \text{ mg.m}^{-3}$)

Extrapolation non linéaire

Green *et al.* (2004) ont réalisé une étude de cohorte chez 70 travailleurs (vs 54 témoins). L'exposition a été estimée à partir des concentrations urinaires en TCA. Les auteurs indiquent qu'il existe une corrélation entre l'exposition au TCE et les concentrations urinaires de TCA et supposent qu'une concentration de 100 mg/L est équivalente à une exposition de 50 ppm de TCE. Aucun effet néphrotoxique clinique n'a été observé pendant cette étude, sans doute du fait de l'importante réserve fonctionnelle des reins. Néanmoins, des effets rénaux subcliniques mineurs significatifs ont été observés chez des travailleurs exposés en moyenne à 32 ppm de TCE (0,5-252 ppm) pendant 4,1 ans en moyenne (1 – 20 années). Le faible accroissement des glutathion S-transférases- α (GST- α) urinaires avec les concentrations urinaires en TCA et non avec la durée d'exposition semble refléter des modifications rénales récentes et probablement réversibles. En outre, la corrélation statistiquement significative entre d'une part les concentrations urinaires d'acide formique et d'acide méthylmalonique et le TCA, et d'autre part entre l'acide formique et la GST- α sont en faveur d'un lien mécanistique entre des paramètres. Les auteurs suggèrent que les métabolites du TCE induisent un déficit en vitamine B12 conduisant à un excès d'acide formique et d'acide méthylmalonique. Ces acides pourraient contribuer à une néphrotoxicité par acidose cellulaire, dont l'élévation de GST- α serait le reflet. Green *et al.* ont également mis en évidence un excès significatifs de marqueurs urinaires de néphrotoxicité (N-acétyl- β -D-glucosaminidase ou NAG) et parmi les travailleurs exposés, mais sans corrélation avec les concentrations urinaires de TCA. Les auteurs évoquent eux-mêmes un effet du hasard, ou un lien avec d'autres facteurs

d'exposition non pris en compte. En se fondant sur cette étude, l'AGS a considéré l'exposition moyenne a été considérée comme une LOAEC pour les effets néphrotoxiques.

Ces résultats sont confirmés par l'étude de Seldén *et al.* (1993) qui n'observe aucune augmentation de l'excrétion urinaire de la NAG chez 29 travailleurs suédois dans le domaine du dégraissage exposés à des concentrations de 6-10 ppm de TCE. De ce fait, l'AGS considère la valeur de 6 ppm établie par Seldén *et al.* (1993) comme une NOAEC pour définir un seuil de toxicité rénale même pour des cohortes importantes de travailleurs sans application de facteurs de sécurité. Les auteurs font l'hypothèse qu'à 6 ppm, le risque est inférieur d'un ordre de grandeur par rapport à l'estimation issue de l'extrapolation linéaire avec la formule suivante :

$$\text{Excès de risque (\%)} = 0,0067 \times \text{concentration (ppm)}$$

Les résultats sont :

- ER de 10^{-4} → 1,5 ppm
- ER de 10^{-5} → 0,15 ppm
- ER de 10^{-6} → 0,015 ppm

À partir de ces valeurs établies pour la population professionnelle, l'ECHA a proposé un ajustement à la population générale. L'exposition d'un travailleur vie entière est estimée en considérant l'inhalation de 10 m³/j 5 jours par semaine, 48 semaines par an pendant 40 ans. Dans la population générale, l'exposition vie entière correspond à l'inhalation de 20 m³/j, 7 jours par semaines pendant 70 ans.

$$\text{Facteur d'ajustement} = (20/10 \text{ m}^3/\text{j}) \times (7/5 \text{ jours}) \times (52/48 \text{ semaines}) \times (70/40 \text{ ans}) = 5,3$$

Tableau 38 : DNEL proposée par l'ECHA (2014) pour des effets cancérogènes

Effet critique Références	Concentration critique	Excès de risque
Hommes : cancer du rein + cytotoxicité Henschler <i>et al.</i> , 1995; Vamvakas <i>et al.</i> , 1998; Brüning <i>et al.</i> , 2003; Green <i>et al.</i> , 2004; Selden <i>et al.</i> , 1993	Extrapolation linéaire POD excès de risque de 5% pour exposition cumulée 3000 ppm Exposition annuelle moyenne de 75 ppm (40 ans) Extrapolation linéaire : Excès de risque (%) = 0,067 x conc (ppm) Suivi d'un ajustement à la population générale	$< 6,2 \text{ mg/m}^3$ $6,9 \cdot 10^{-4} \text{ (mg/m}^3) \times$ concentration - 0,0039
	Extrapolation non linéaire Seuil d'effets néphrotoxiques (NOAEC = 6 ppm, LOAEC 32 ppm) Excès de risque (%)= 0,0067 x conc (ppm) (X < 6 ppm) Suivi d'un ajustement à la population générale	$\geq 6,2 \text{ mg/m}^3$: $6,9 \cdot 10^{-5} \text{ (mg/m}^3) \times$ concentration

4.4 Synthèse des VTR existantes par voie respiratoire

Les tableaux ci-après décrivent les VTR par voie respiratoire du TCE établies par différents organismes internationaux pour des expositions aiguë, subchronique et chronique.

Tableau 39 : VTR disponibles pour une exposition aiguë par inhalation

Organisme	ATSDR
Année	Draft 2014
Valeur VTR	Pas de VTR
Effet critique	Manque de données adéquates chez l'Homme ou l'animal pour une durée d'expo ≤ 14 jours
Espèce	
Type d'exposition	
Voie d'exposition	
Concentration critique	
Ajustements	
UF	
Étude source	

Tableau 40 : VTR disponibles pour des expositions subchronique/chronique par inhalation

	VTR subchronique	Valeur guide/VTR chronique à seuil				
Organisme	ATSDR	US EPA		OEHHA	ATSDR	RIVM
Année	Draft 2014	2011		2000	Draft 2014	2001
VTR	MRL	RfC		REL	MRL	VTR provisoire
Valeur VTR	0,002 mg.m⁻³	0,002 mg.m⁻³		0,6 mg.m⁻³ (0,1 ppm)	0,002 mg.m⁻³	0,2 mg.m⁻³
Effet critique	Reprise de la RfC chronique de l'US EPA	Immunotoxicité (diminution poids du thymus)	Effets sur le développement (augmentation malformations fœtales)	Neurotoxicité (fatigue, irritation oculaire, maux de tête)	Reprise de la VTR de l'US EPA	Hépatotoxicité (modification du poids relatif du foie)
Espèce		souris femelles B6C3F ₁	rats SD	Travailleurs		souris
Type d'exposition		30 semaines	GD1 – 22 par ingestion dans l'eau	exposés de manière discontinuée pendant 8 ans		30 jours à 0 – 37 – 75 – 150 et 300 ppm (0 – 200 – 400 – 800 et 1600 mg.m ⁻³)
Voie d'exposition		Voie orale <i>via</i> l'eau de boisson	Voie orale <i>via</i> l'eau de boisson	Inhalation		inhalation
Concentration critique		LOAEL = 0,35 mg/kg/j <i>Transformation en dose interne (modèle PBPK) →</i> POD interne = 0,139 mg TCE oxydé/kg ^{3/4} /j	<i>Calcul BMC + transformation en dose interne (modèle PBPK) →</i> BMD ₀₁ L = 0,0142 mg TCE oxydé/kg ^{3/4} /j	LOAEC = 32 ppm		LOAEC = 37 ppm (200 mg.m ⁻³) Pas de NOAEC
Ajustements		<i>Extrapolation voie à voie + ajustement allométrique (modèle PBPK) →</i> LOAEC _{HEC99} 0,19 mg/m ³	<i>Extrapolation voie à voie + ajustement allométrique (modèle PBPK) →</i> BMC ₀₁ L _{HEC99} 0,021 mg/m ³	<i>Ajustement temporel</i> LOAEC _{ADJ} = 11,4 ppm (32 x 10/20 x 5/7)		
UF		100 UF _A = √10 UF _H = √10 UF _L = 10 UF _S = 1	10 UF _A = √10 UF _H = √10 UF _L = 1 UF _S = 1	100 UF _H = 10 UF _L = 10		1000 UF _A = 10 UF _H = 10 UF _L = 10
Référence		Keil <i>et al.</i> (2009)	Johnson <i>et al.</i> (2003)	Vandervort et Polnkoff (1973)		Kjellstrand <i>et al.</i> (1983)

Tableau 41 : VTR sans seuil disponibles pour des expositions chroniques par inhalation

Organisme	VTR chronique sans seuil							
	Santé Canada		OEHHA	OMS		US EPA	ECHA	
	1993		2009	2000		2011	2014	
VTR	TC _{0,05}		Inhalation Unit Risk	ERU		ERU	DNEL	
Valeur VTR	82 mg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁶ Correspondant à 10 ⁻⁷ (µg/m ³) ⁻¹		2.10 ⁻⁶ (µg.m ⁻³) ⁻¹	4,3.10 ⁻⁷ (µg.m ⁻³) ⁻¹		4,1 .10 ⁻⁶ (µg.m ⁻³) ⁻¹	≥ 6,2 mg/m ³ : 6,9.10 ⁻⁵ (mg/m ³) x concentration	< 6,2 mg/m ³ : 6,9.10 ⁻⁴ (mg/m ³) x concentration
Effet critique	Tumeurs des testicules		Adénomes et carcinomes hépatocellulaires (mâle) Adénocarcinomes pulmonaires et lymphomes malins (femelle)	Tumeurs des cellules de Leydig	Adénomes et carcinomes pulmonaires	Carcinome rénal, lymphome non Hodgkinien et tumeurs hépatiques	Cancer du rein + cytotoxicité	
Espèce	Rats Sprague-Dawley		Souris	Rats Sprague-Dawley	Souris Swiss mâles	Travailleurs	Hommes	
Type d'exposition	Inhalation		Inhalation	Inhalation	Inhalation	Inhalation	Inhalation	
Voie d'exposition	18 mois			0 – 270 – 810 et 2 430 mg.m ⁻³ de TCE (pureté 99,8 %, contenant 0,2 % d'un mélange de benzène et d'épichlorhydrine) pendant 104 semaines, 7 h/j et 5 j/semaine	0 – 540 – 1620 et 3 240 mg.m ⁻³ de TCE (pureté 99,9 %, sans époxyde), pendant 78 semaines, 7 h/j et 5 j/semaine			
Construction Ajustements Extrapolation aux faibles concentrations	LMS (données non corrigées) CT _{0,05} = 82 mg.m ⁻³	LMS (nombre d'animaux en vie au moment de l'apparition de la 1 ^{ère} tumeur des testicules) CT _{0,05} = 91 mg.m ⁻³	Ajustement temporel et allométrique (PBPK) LMS	LMS ERU = 4,3.10 ⁻⁷ (µg.m ⁻³) ⁻¹	LMS ERU = 9,3.10 ⁻⁸ (µg.m ⁻³) ⁻¹	Extrapolation linéaire à l'origine Ajustement de l'excès de risque calculé pour cancer du rein sur le risque potentiel de tumeurs sur des sites multiples (foie, lymphome non Hodgkinien) (facteur 4 : calculs basés sur US EPA, 2011 ; Raaschou-Nielsen <i>et al.</i> , 2003)	Extrapolation non linéaire Seuil d'effets néphrotoxiques (NOAEC = 6 ppm, LOAEC = 32 ppm) Excès de risque (%)= 0,0067 x conc (ppm) (X < 6 ppm)	Extrapolation POD excès de de 5% pour ex cumulée 300 Exposition ar moyenne de 7 (40 ans Extrapolation l Excès de risqu 0,067 x conc
Référence	Maltoni <i>et al.</i> (1988)		Bell <i>et al.</i> (1978) ; Henschler <i>et al.</i> (1980) ; Fukada <i>et al.</i> (1983) ; Maltoni <i>et al.</i> (1988)	Maltoni <i>et al.</i> (1988)		Charbotel <i>et al.</i> (2006)	Henschler <i>et al.</i> (1995) ; Vamvakas (1998) ; Brüning <i>et al.</i> (2003)	

5 Proposition de VTR aiguë

5.1 Choix de l'effet critique

Chez l'Homme, une exposition court terme par inhalation au TCE entraîne des effets sur le **système nerveux central (SNC)**. En effet, lors d'expositions massives (plusieurs centaines de ppm), un état d'excitation suivi d'une dépression du SNC (syndrome ébrieux, puis coma) ont été mis en évidence. Plusieurs études menées chez des volontaires dans des conditions contrôlées ont observé des effets neurologiques mineurs (étourdissements, fatigue, somnolence) à partir de 200 ppm (Stewart *et al.*, 1970 et 1974 ; Vernon et Ferguson, 1969 ; Ferguson et Vernon, 1970 cité dans US EPA, 2008). Aucun signe significatif de dépression du SNC n'a été observé à cette concentration et à des concentrations inférieures (Ferguson et Vernon, 1970 ; Triebig *et al.*, 1976 et 1977 ; Konietzko *et al.*, 1975a et b ; Windemuller et Ettama, 1978 ; Winneke *et al.*, 1976 et 1982 ; Ettema et Zielhuis, 1975 ; Ettema *et al.*, 1975 cités dans US EPA, 2008 et 2011 ; Stewart *et al.*, 1970 et 1974 ; Vernon et Ferguson, 1969) hormis dans l'étude de Salvini *et al.* (1971) qui a observé une altération des performances à 110 ppm. L'exposition à 1 000 ppm pendant 2h a entraîné des changements marqués dans la performance à des tests neurocomportementaux (Vernon et Ferguson, 1969 et 1970). Les effets observés aux plus faibles concentrations, dès 27 ppm, sont des effets subjectifs (somnolence) signalés par des volontaires, sans modification significative dans des tests neurocomportementaux (Nomiya et Nomiya, 1977).

Chez l'animal, de nombreuses études font également état de la **neurotoxicité** du TCE. Ces effets semblent particulièrement précoces, avec des NOAEC allant de 120 à 2 400 ppm. La difficulté est souvent de conclure quant à leur significativité ou leur nocivité, les études étant souvent anciennes et réalisées avec des protocoles différents de ceux qui seraient utilisés aujourd'hui.

Quelques rapports de cas ont observé des effets hépatiques et rénaux, mais de façon plus ponctuelle, et à des concentrations élevées (2 800 ppm).

Des **effets hépatiques** surviennent chez des rongeurs après exposition à des concentrations de 10 000 ppm de TCE pendant 3h chez des rats (augmentations d'enzymes sériques, effets histologiques, ...) ou 800 ppm pendant 3h chez la souris (indications biochimiques). Des arythmies ont également été observées chez plusieurs espèces à partir de 3 000 ppm. Enfin, une augmentation de marqueurs urinaires indiquant une altération des fonctions tubulaire et glomérulaire a été observée à 1 000 et 2000 ppm chez des rats exposés 6h. Chez les animaux également, les effets sur le SNC semblent donc les plus sensibles.

En conclusion, l'effet critique retenu est l'effet sur le système nerveux central (SNC).

5.2 Analyse des VTR aiguës existantes

Aucune VTR aiguë par inhalation n'étant disponible, le CES s'oriente donc vers la construction d'une telle VTR.

5.3 Construction d'une VTR aiguë

Les effets sur le SNC ont été observés aussi bien dans les études chez l'animal que chez l'Homme.

Chez l'animal, les études disponibles ne sont pas exploitables pour construire une VTR (gamme de concentrations testées inadéquates, difficulté d'interprétation des résultats, mauvaise description des protocoles expérimentaux, etc.).

Les études humaines mettant en évidence des effets neurotoxiques consécutifs à une exposition à court terme sont des rapports d'accidents et des études contrôlées. Les études indiquent plutôt l'absence d'effets aigus chez l'Homme à des niveaux de concentrations inférieures à 100 ppm et pour des expositions de même durée : exposition de 1 à 6 heures. Il n'est pas possible d'utiliser les rapports d'accidents qui concernent souvent un seul individu exposé à des niveaux de concentrations très élevées. Il existe quelques études contrôlées chez l'Homme explorant principalement les effets sur le système nerveux à cause des propriétés anesthésiques reconnues du TCE. L'étude de Winneke *et al.* (1982) est une des seules études à mettre en évidence des effets objectifs (modification des potentiels évoqués auditifs) à une concentration relativement faible (50 ppm). Elle est confortée par l'étude de Salvini *et al.* (1971) dans laquelle une diminution de la performance dans tous les tests neurocomportementaux a pu être observée chez des étudiants et des travailleurs à 110 ppm. Néanmoins, l'ensemble de ces études sont anciennes et souffrent de limites méthodologiques telles que le faible nombre de sujets, l'absence de groupe témoin, le faible nombre de concentrations testées, etc. qui rendent difficiles leur exploitation pour la construction d'une VTR aiguë (Tableau 42).

Le CES n'a pas identifié, dans la littérature, de données quantitatives de qualité suffisante sur des expositions court terme par inhalation pour construire une VTR aiguë malgré l'existence d'effet neurologique. Ainsi, le CES ne propose pas de VTR aiguë.

Tableau 42 : Limites des études épidémiologiques court terme observant des effets neurotoxiques

Référence	LOAEC /NOAEC (ppm)	Retenue comme étude clé	Limites
Kylin <i>et al.</i> , 1967	1 000 / -		Étude contrôlée chez 12 sujets (7 sujets testés 5 jours avant l'exposition au TCE) 1 concentration testée. Pas d'analyse statistique des résultats présentés
Vernon et Ferguson, 1969 ; Ferguson et Vernon, 1970	1 000 / 300	NRC (2008) – AEGL-1 et AEGL-2	Étude contrôlée chez 8 sujets masculins (sujets testés avant exposition pour établir une référence). Sympômes subjectifs rapportés très brièvement
Stewart <i>et al.</i> , 1970	200 / -	ATSDR (1997) (mais non retenue en 2014)	Étude contrôlée chez 6 étudiants masculins Pas de groupe témoin Étude statistique descriptive Résultats rapportés uniquement sous forme d'un bref résumé
Salvini, 1971	110 / -		Étude contrôlée chez 6 étudiants masculins 1 concentration testée variant entre 90 et 130 ppm Pas de groupe témoin Report insuffisant des données. Stewart <i>et al.</i> (1974b) n'ont pas reproduit ces résultats.
Ertle <i>et al.</i> , 1972	50 / -		Étude contrôlée chez 5/6 sujets selon les conditions d'exposition Pas de groupe témoins Difficulté d'interprétations des résultats (étude avec pour objectif d'investiguer le métabolisme du TCE)
Stewart <i>et al.</i> , 1974a	50 / 110		Étude contrôlée chez 9 sujets (sujets testés avant exposition pour établir une référence) Effets subjectifs observés à toutes les concentrations mais également à 0 ppm
Ettema et Zielhuis, 1975	- / 300		Étude contrôlée chez 47 sujets Pas de résultats significatifs
Konietzko <i>et al.</i> , 1975	- / 95,8		Étude contrôlée chez 20 sujets masculins (sujets testés avant exposition pour établir une référence) 1 concentration testée Pas de résultats significatifs
Gamberale <i>et al.</i> , 1976	100 / -		Étude contrôlée chez 15 étudiants masculins (15 témoins) Rapport très limité
Winneke <i>et al.</i> , 1976	- / 50		Étude contrôlée chez 12 volontaires 1 concentration testée Rapport limité
Triebig <i>et al.</i> , 1976 et 1977	- / 100		Étude contrôlée chez 7 volontaires 1 concentration testée Pas de résultats significatifs Pas de description des méthodes
Nomiyama et Nomiyama, 1977	27 / -		Étude contrôlée chez 12 étudiants (pas d'indication de groupe témoins) Rapport d'étude limité Nombre limité de sujets par concentration (3 /concentration) Exposition indiquée par l'odeur. Manque d'analyse statistique Occurrence sporadique des effets Absence de relation dose-réponse claire Discordances entre texte et le tableau récapitulatif Les effets n'étaient pas liés à la concentration, les effets ont été signalés plutôt à de faibles concentrations par rapport aux fortes concentrations.
Windemuller et Ettema, 1978	- / 200		Étude contrôlée chez 6 sujets masculins (groupe témoins) 1 concentration testée Pas de résultats significatifs pour une exposition au TCE seul

6 Proposition de VTR subchronique et chronique à seuil

6.1 Choix de l'effet critique

Par voie respiratoire, les principaux effets induits par le TCE suite à une exposition répétée sont des effets rénaux, immunologiques et neurologiques.

Le TCE est capable d'exercer des effets sur le **système immunitaire**, aussi bien chez l'Homme que chez l'animal, qui vont se traduire non seulement sur les cellules/tissus de l'immunité mais aussi sur d'autres tissus/organes et être donc à l'origine d'effets systémiques. On peut distinguer 2 types d'effets immunotoxiques liés à l'exposition au TCE : l'immunosuppression et l'auto-immunité.

Les effets immunosuppresseurs du TCE, observés chez l'Homme et l'animal, ont été mis en évidence par des impacts divers et variés du TCE sur le système immunitaire. Chez l'Homme, on note ainsi une diminution du nombre des lymphocytes T CD4 et CD8, des lymphocytes B, des cellules NK, une diminution des niveaux sériques d'IgM et d'IgG, de la cytokine IL-4 et une augmentation des niveaux sériques des cytokines IL-2 et INF- γ (Lehmann *et al.*, 2001 et 2002 ; Iavicoli *et al.*, 2005 ; Lan *et al.*, 2010 cités dans ATSDR, 2014 et US EPA, 2011). Les conséquences sur la susceptibilité aux infections virales et bactériennes ou sur la survenue de tumeurs d'origine virale n'apparaissent pas claires. Ces effets ne sont donc pas pertinents pour pouvoir être retenus comme effet critique.

Les effets d'auto-immuns sont aussi observés chez l'Homme et l'animal. Une association entre exposition au TCE et survenue de sclérodémie a été retrouvée dans un certain nombre d'études. Des cas de sclérodémie ont été rapportés chez des personnes exposées au TCE avec production d'auto-anticorps antinucléaires (Cooper *et al.*, 2009 cité dans ATSDR, 2014). Ces personnes présentaient une atteinte cutanée sévère et généralisée accompagnée d'atteintes systémiques. Les effets observés ici sont bien des effets néfastes. Cependant, les études chez l'Homme sont souvent réalisées dans le cadre de multi-expositions d'origine professionnelles (Flindt-Hansen *et al.*, 1987 ; Hansen *et al.*, 1988 ; Brasington *et al.*, 1992 ; Tibon-Fisher *et al.*, 1992 ; Yanez Diaz *et al.*, 1992 ; Czirjak *et al.*, 1993 ; Bond, 1996 ; Chittasobhaktra *et al.*, 1997 ; Pralong *et al.*, 2009 ; Cooper *et al.*, 2009 cité dans ATSDR, 2014). Les études réalisées chez l'animal ont été faites dans des modèles de rongeurs susceptibles de développer des maladies auto-immunes et les effets biologiques mesurés dans ces études restent souvent ponctuels pour les relations effets-dose observées, rendant ces études inutilisables comme étude clé (Kaneko *et al.*, 2000). Ainsi, les incertitudes autour des effets d'auto-immunité observés chez l'Homme et l'utilisation de données animales ne permettent pas de retenir ces effets comme effets critiques.

Le CES souligne, par ailleurs, le fait que la présence possible d'impuretés et celle avérée d'adjuvants dans les préparations commerciales rendent les observations de certaines études d'interprétation délicate.

Les **effets neurologiques** pertinents observés sont un trouble de la conduction nerveuse sur le nerf trijumeau et des atteintes de la fonction vestibulaire.

Les atteintes de la fonction vestibulaire ne peuvent pas être retenus, malgré la qualité des études les décrivant, car il s'agit principalement d'études de toxicité aiguës et sur des seuils de doses élevées (plusieurs milliers de ppm).

Les troubles de la conduction nerveuse ont été observés à la fois chez l'Homme et l'animal. Les études chez l'Homme (Mhiri *et al.*, 2004 ; Ruijten *et al.*, 1991 cité dans US EPA, 2011 et ATSDR, 2014) sont également de bonne qualité, mais les facteurs de confusion (exposition à d'autres solvants), ou l'absence de données d'exposition sont des facteurs limitants. L'étude chez l'animal (Arito *et al.*, 1994 cité dans NRC, 2006) est une étude de bonne qualité ne présentant pas de relation dose-effet et dont la durée d'exposition (6 semaines) ne permet pas la construction d'une VTR chronique.

Les **effets rénaux**, principalement au niveau tubulaire, apparaissent également à des concentrations faibles. Chez l'Homme, les études mettent en évidence des modifications de marqueurs urinaires, notamment d'atteintes tubulaires. Les études par inhalation chez l'animal montrent des effets tels que l'augmentation du poids des reins chez les rats et les souris dès 75 ppm (étude sur 30 jours, Kjellstrand *et al.*, 1983) et une caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales dès 300 ppm chez des rats mâles exposés 104 semaines (Maltoni *et al.*, 1988). Les mêmes lésions tubulaires rénales que celles décrites par Maltoni *et al.* (1988) chez le rat mâle (cytomégalie et caryomégalie) ont également été observées, mais à des concentrations plus fortes, chez les rats femelles et chez des souris des deux sexes suite à une exposition par voie orale (NCI, 1976 ; NTP, 1988 et 1990 cités dans US EPA, 2011).

Le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est lié aux métabolites issus de la voie de conjugaison du glutathion tels que la DCVC et ses métabolites. La voie de conjugaison du glutathion se produisant dans le tissu rénal humain contenant les enzymes appropriées pour la bioactivation des conjugués du glutathion, la production des métabolites actifs qui seraient responsables de effets rénaux chez le rat se produit probablement chez l'Homme. Sur la base des prédictions issues des modèles PBPK chez la souris, le rat et l'Homme, les Hommes auraient une plus forte capacité à réaliser la conjugaison du TCE par le GSH, ce qui laisse prédire une plus forte néphrotoxicité chez l'Homme par rapport aux rongeurs (US EPA, 2011, ATSDR, 2014).

Le CES retient l'effet rénal comme effet critique pour la construction d'une VTR en raison d'un mécanisme de néphrotoxicité bien identifié, d'une apparition de cet effet à de faibles concentrations chez l'animal, de la plausibilité de sa transposition à l'homme et de l'existence d'une étude de bonne qualité (Maltoni *et al.*) corroborée par plusieurs autres études chez deux espèces animales (rat et souris) .

6.2 Analyse des VTR chroniques existantes

Quatre organismes ont proposé des VTR chroniques à seuil pour une exposition par inhalation.

La VTR du RIVM ne peut être retenue car elle est sous forme provisoire. De plus, cette VTR est n'est pas basée sur les effets rénaux, mais sur des effets pouvant signer une adaptation à l'exposition au TCE et non un effet adverse (modification du ratio entre le poids du foie et le poids corporel). Cet effet est observé chez des souris qui constituent une espèce sensible aux effets hépatotoxiques du TCE.

En 2003, l'OEHHA a proposé une VTR chronique basée sur l'étude humaine de Vandevort et Polnkoff (1973). L'analyse de l'étude source qui a permis la construction de la VTR ainsi que l'application des facteurs d'incertitude sont décrites dans le chapitre 4.3.1.2. L'étude a été réalisée en milieu professionnel. Le nombre de travailleurs pris en compte est de 19 individus, l'exposition a été mesurée sous forme de TCA urinaire, par rapport à une journée de travail de 8 heures (expositions individuelles). Ces mesures ont été réalisées sur 11 jours de travail et extrapolées à une exposition chronique. Par ailleurs, concernant la définition des effets recherchés, les effets retenus comme critiques sont des symptômes neurologiques légers non spécifiques et non objectivés (questionnaires aux travailleurs). Aucune NOAEC n'a été identifiée dans cette étude. L'analyse détaillée de l'étude source et des facteurs d'incertitude appliqués a conduit à ne pas retenir cette valeur pour plusieurs raisons : des effets sur la santé subjectifs qui pourraient aussi bien correspondre à des effets subaigus qu'à des effets chroniques (et donc pas les effets rénaux, considérés par le CES comme l'effet critique), l'absence de prise en compte des facteurs de confusion possibles (en particulier de la consommation d'alcool et de psychotropes).

Enfin, en 2011, l'US EPA a proposé une RfC. La méthode de construction employée par l'US EPA pour dériver sa RfC est relativement inédite. Elle consiste à calculer *a priori* des RfC candidates puis à rechercher ensuite l'étude correspondant à la RfC la plus faible. L'approche retenue ne suit pas les guides méthodologiques de construction de VTR de l'US EPA et n'est pas en accord avec la démarche proposée par l'Anses pour l'élaboration des VTR (Afsset, 2010). Du fait de cette méthode de construction atypique, le choix des études clés ne s'est pas basé sur leur qualité ou la pertinence des effets critiques, mais sur la plus faible valeur de RfC obtenue. Ainsi, l'étude de Johnson *et al.* présente des limites importantes décrites par l'US EPA et ayant nécessité la communication de données non publiées pour construire la VTR. L'US EPA considère que l'ensemble des données supportent l'existence de malformations cardiaques induites par le TCE. Quant à l'étude de Keil *et al.*, celle-ci présente également des limites : étude non conforme aux guidelines même si elle suit les bonnes pratiques de laboratoire (nombre d'animaux par dose, sexe, ...), absence de contrôle de la consommation d'eau (un calcul *a posteriori* a été réalisé par l'US EPA sur une base moyenne historique), effets sur le thymus non directement recherchés. Ce dernier point pose la question de la transposabilité de cet effet immunologique à l'Homme. En effet, la variation de poids du thymus chez la souris n'est pas un marqueur spécifique d'une immunotoxicité, et n'a donc pas été retenu par le CES comme effet critique (cf. §6.1 Choix de l'effet critique). Ainsi, le NTP déconseille d'utiliser cet effet pour dériver une RfC, d'autant que l'étude Keil *et al.* met en évidence d'autres effets auto-immuns à la même dose (augmentation des auto-anticorps à l'ADN simple et double brin associé à une augmentation de pathologie rénale). Selon le NTP, ces effets auto-immuns auraient dû être retenus comme effets critiques car ils ont une signification fonctionnelle et présentent un lien plus fort entre l'effet auto-immun observé chez l'animal et les effets auto-immuns induits par TCE chez l'Homme.

La BMC construite à partir de l'étude de Johnson *et al.* présente certaines limites. En effet, l'US EPA a exclu la plus forte dose pour calculer cette BMC. Il est à noter qu'aucun effet n'était observé à la 1^{ère} dose testée (aucun animal ne présentait de malformation cardiaque).

L'US EPA a établi finalement sa RfC en faisant la moyenne de 2 RfC candidates établies à partir de 2 études différentes, de qualité limitée et mettant en évidence des effets différents. Le CES VSR considère que faire la moyenne d'études de qualité limitée ne permet pas d'obtenir une valeur finale de meilleure qualité.

L'ATSDR a retenu la RfC de l'US EPA dans son document de travail (ATSDR, 2014).

Sachant que la méthode de construction de l'US EPA n'est pas validée par le CES VSR et que la qualité des études est limitée, la RfC de l'US EPA n'est pas retenue, le CES s'oriente donc vers la construction d'une telle VTR.

6.3 Construction d'une VTR chronique

6.3.1 Choix de l'étude clé

Les études réalisées chez l'Homme concernant la toxicité rénale ont été jugées de qualité insuffisante par le CES en vue de dériver une VTR. En effet, les études chez l'Homme souffrent de nombreuses limites incluant notamment une mauvaise évaluation de l'exposition (peu de mesures et protocoles peu détaillés, ignorance des facteurs de co exposition), intervalle d'exposition très large, faible nombre de sujets, absence éventuelle de groupe témoins, difficulté d'interprétation des résultats,...

Les études de Brüning *et al.* (1999, 2003), de Radican *et al.* (2006) et de Bolt *et al.* (2004) ne disposent pas de données quantitatives caractérisant les niveaux d'exposition.

L'étude de Selden *et al.* (1993), retenue par le SCOEL et l'AGS, a été écartée par le CES VLEP (2010-2013). En effet, l'étude a été réalisée sur 29 personnes sans groupe témoin. Seul un prélèvement par personne a été obtenu en fin de semaine de travail, soit 29 prélèvements par milieu (pour un travailleur, un prélèvement atmosphérique en zone respiratoire et un prélèvement urinaire le lendemain matin). Les niveaux d'exposition sont peu décrits dans la publication et aucune évaluation n'a été réalisée. Les auteurs indiquent que le nombre d'heures d'exposition au TCE durant la semaine de travail avant le prélèvement variait de 0 à 32 heures par personne indiquant un profil d'exposition individuel très irrégulier. L'objectif de cette publication était clairement de démontrer une relation entre l'exposition au TCE et la présence d'un marqueur urinaire. La seule corrélation observée (entre le TCA urinaire et la NAG) ne repose que sur une valeur extrême et les auteurs eux-mêmes doutent de sa signification. L'étude de Green *et al.* (2004), également retenue par le SCOEL, a été écartée par le CES VLEP (2010-2013) pour des raisons similaires. Les auteurs calculent indirectement l'exposition par inhalation en indiquant une corrélation entre l'exposition à la substance et les concentrations urinaires de TCA (sur la base d'une équivalence entre une concentration de 100 mg.L⁻¹ et une exposition au TCE de 50 ppm). Les profils d'exposition concernent une population de 70 travailleurs et présentent un intervalle large avec une durée moyenne d'exposition de 4,1 années (1 – 20 années) pour une concentration journalière moyenne évaluée à 32 ppm (0,5 – 252 ppm). Bien que les auteurs ne concluent pas sur l'existence d'un effet en deçà de 252 ppm, l'AGS a considéré comme NOAEC la moyenne d'exposition (32 ppm) de cette étude. A noter que la publication de Green *et al.* (2004) a été soutenue financièrement notamment par l'association européenne des solvants chlorés (European Chlorinated Solvents Association).

Seules deux études animales ont mis en évidence des effets rénaux suite à une exposition subchronique ou chronique par inhalation : Kjellstrand *et al.* (1983) et Maltoni *et al.* (1988).

Après l'analyse des études animales, le CES a retenu l'étude de **Maltoni *et al.* (1988)**. Les auteurs ont observé une **caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales** à 300 et 600 ppm chez des rats mâles (résultats significatifs pour les deux concentrations, $p < 0,01$) (Tableau 43). Cet effet n'a pas été observé chez les témoins historiques et les rats exposés pendant 8 semaines. Les auteurs indiquent que cette atteinte rénale peut être considérée comme un effet précurseur du cancer du rein et a été observée chez les rats présentant un adénocarcinome rénal.

Tableau 43 : Résumé de l'étude de Maltoni *et al.* (1988)

Espèce	Durée exposition (semaine)	Concentration (ppm)	Nombre individus (M + F)	Effets non tumoraux	Tumeurs	
Rat Sprague Dawley	8	toutes concentrations	2 sexes	rien de notable		
	104	600	130+130	Caryomégalie des cellules tubulaires rénales	Adénocarcinome rénal chez 4 rats mâles et chez 1 femelle	tumeurs des cellules de Leydig dose dépendante, lymphomes immunoblastiques non dose dépendants
		300	130+130		0	
		100	130+130	0	0	
		0	135+145	0	0	
souris Swiss	8	toutes concentrations	2 sexes	rien de notable		
	78	0; 100; 300; 600	360M et 360F	0	Tumeurs des poumons et du foie chez mâles à 300 et 600 ppm	
souris B6C3F1	78	0; 100; 300; 600	360M et 360F	baisse survie (pb agressivité)	↑ tumeurs des poumons chez femelles à 600 ppm ↑ tumeurs totales chez femelles	
		0; 100; 300; 600	360M	baisse survie et poids non dose dépendante	0	

Bien qu'étant observé uniquement chez les rats mâles, le CES a retenu la caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales mis en évidence dans l'étude de Maltoni *et al.* (1988) à 300 ppm (NOAEC = 100 ppm) car :

- Les mêmes lésions tubulaires rénales que celles décrites par Maltoni *et al.* (1988) chez le rat mâle (cytomégalie et caryomégalie) ont également été observées, mais à des concentrations plus fortes, chez les rats femelles et chez des souris des deux sexes suite à une exposition par voie orale (NCI 1976 ; NTP 1988 et 1990 cités dans US EPA, 2011).
- La toxicité rénale serait différente selon les sexes chez les rats, les cobayes et les Hommes. Burg *et al.* ont mis en évidence que les femmes âgées de 55 à 64 ans présentaient un risque élevé de néphropathie (RR = 4,57, IC_{99%} = 2,10-9,93) comparativement aux hommes, de même qu'un risque élevé de maladies des voies urinaires chez les hommes et les femmes (Burg *et al.*, 1995 cité dans US EPA, 2011). Chez les rongeurs, le poids des reins était augmenté davantage chez les souris mâles que chez les femelles (Kjellstrand *et al.*, 1983a et b cité dans US EPA, 2011), et

les rats mâles présentaient une toxicité rénale induite par le TCE accrue comparativement aux femelles (Lash *et al.*, 1998 a et 2001b cité dans US EPA, 2011).

- La caryocytomégalie est décrite chez l'Homme dans des affections rénales telles que la néphrite intersticielle caryomégaly, la néphropathie des balkans ou la néphropathie consécutive à l'intoxication à l'ochratoxine A (le lien entre ces deux dernières affections demeurant incertain).

6.3.2 Choix de la concentration critique

Les données de l'étude de Maltoni *et al.* mettent en évidence une relation dose-réponse entre un effet rénal (caryocytomégalie) et l'exposition au TCE (Tableau 44). Celle-ci a été modélisée à l'aide du logiciel proposé par l'EFSA (EFSA, 2017) qui utilise Proast (Proast software version 65.7) élaboré par le RIVM pour l'élaboration d'une Benchmark Concentration (BMC).

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Ce niveau ou ce pourcentage est appelé BMR pour Benchmark Response et correspond à un excès de risque de 10% (BMR recommandé par l'Anses et l'EFSA pour les données quantales). Le niveau de confiance associé à la BMCL est de 90%.

L'EFSA propose d'avoir recours à l'approche par « model averaging » (basée sur la publication de Wheeler et Bailer, 2008) qui permet de prendre en considérations l'ensemble des modèles qui décrivent les données expérimentales et de les pondérer en fonction de leur AIC (critère d'Akaike) (les modèles qui décrivent le mieux les données bénéficient d'une pondération plus forte : plus l'AIC est faible plus l'ajustement est jugé de bonne qualité).

Tableau 44 : Résumé des données modélisées

Concentration (ppm)	Effectif	Pourcentage de rats atteints	Nombre de rats mâles atteints
0	135	0	0
100	130	0	0
300	130	16,9	22
600	130	77,7	101

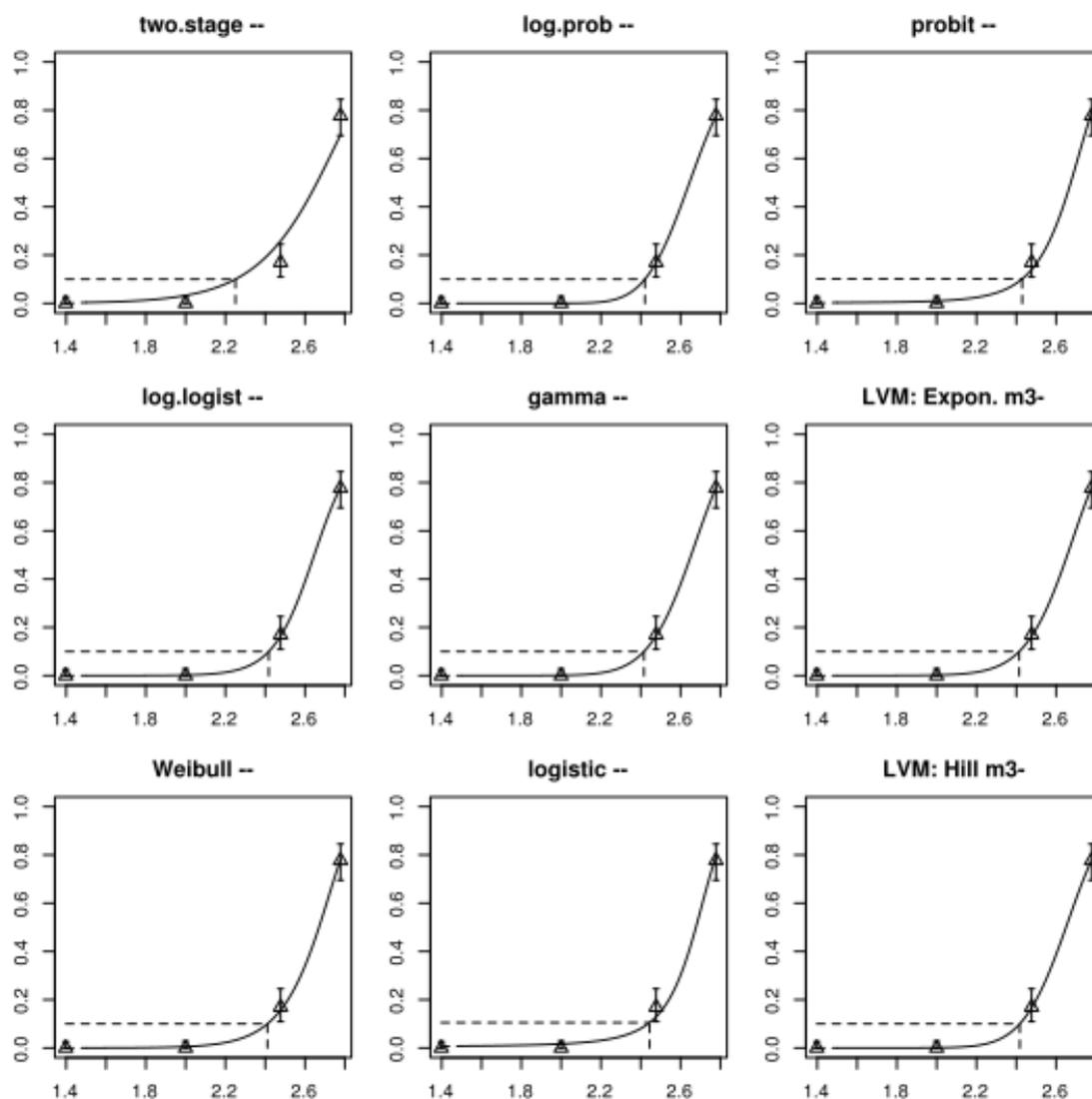


Figure 5 : Modélisation de la caryocytomégalie

La concentration critique calculée est :

$$\text{BMC}_{10\%}\text{L}_{90\%} = 238 \text{ ppm}$$

6.3.3 Ajustement temporel

Les rats sont exposés durant 5 jours par semaine et 7 heures par jour pendant 104 jours (soit vie entière pour le rongeur). Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$$\text{BMC}_{10\%}\text{L}_{90\%} \text{ ADJ} = 238 \times 5/7 \times 7/24 = 49,6 \text{ ppm}$$

6.3.4 Ajustement dosimétrique

Des modèles PBPK ont été développés, permettant de modéliser le devenir du TCE dans les organismes chez le rat et l'Homme pour différentes voies d'exposition (cf. §3.1.5). Le modèle PBPK de Covington *et al.* (2006) appartenant à l'équipe de Fisher a été utilisé.

La démarche *via* l'utilisation du modèle consiste à convertir la concentration externe d'exposition chez l'animal en une dose interne chez l'animal à l'aide d'un modèle PBPK, en l'occurrence, en

une concentration sanguine de DCVC (exprimée en mg/L), la DCVC étant probablement le métabolite responsable des effets néphrotoxiques (cf. §3.3.2). Il est fait l'hypothèse que la concentration interne chez le rat est équivalente à la concentration interne chez l'Homme. Inversement, le modèle PBPK humain, va également permettre de convertir la dose interne d'exposition en une concentration externe chez l'Homme qui constituera la $BMC_{10\%L_{90\% ADJ HEC}}$.

Ainsi, pour une concentration critique calculée ($BMC_{10\%L_{90\% ADJ}} = 49,6$ ppm) chez le rat, la concentration sanguine associée de DCVC serait de $9,4 \cdot 10^{-4}$ mg/L chez le rat. A cette dose interne chez le rat, correspond une concentration d'exposition au TCE de 43,7 ppm, chez l'Homme. Ainsi, une exposition journalière chez le rat à une concentration de TCE de 49,6 ppm correspondrait à une concentration d'exposition chez l'Homme de 43,7 ppm ; cette valeur pouvant être considérée comme la $BMC_{5\%L_{95\% HEC}}$ (Figure 7).

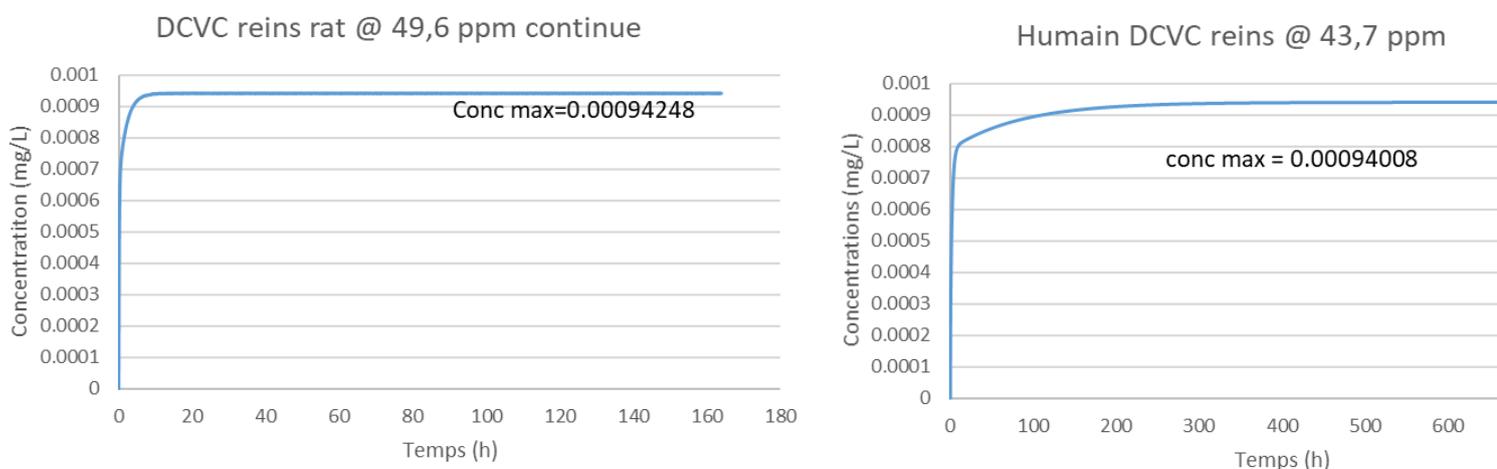


Figure 6 : Modélisation PBPK - DCVC

Le CES retient donc comme $BMC_{5\%L_{95\% ADJ HEC}}$ de 43,7 ppm fondée sur le DCVC. En effet, le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est probablement le DCVC issu de la voie de conjugaison au glutathion.

6.3.5 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $BMC_{5\%L_{95\% ADJ HEC}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2017) :

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

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide du modèle PBPK de Covington *et al.* (2006). 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 (OMS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).

- 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) : 1
- Utilisation d'une BMCL, LOAEC ou NOAEC ($UF_{B/L}$) : 1

- Insuffisance des données (UF_D) : 3

Même si le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est lié aux métabolites issus de la voie de conjugaison au glutathion tels que la DCVC et ses métabolites, des doutes persistent quant à l'existence d'un mécanisme d'action impliquant l'acide formique dû à la formation de TCOH ou de TCA à partir de TCE (cf. § 3.3.2). Ainsi, par précaution, le CES propose d'appliquer un UF_D de 3.

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

6.3.6 Proposition de VTR chronique

Ainsi, la VTR chronique par inhalation est calculée de la façon suivante :

$$VTR = BMC_{5\%}L_{95\%}HEC / UF$$

$$VTR = 0,58 \text{ ppm, soit } 3,2 \text{ mg.m}^{-3}$$

6.3.7 Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **fort**. La base de données est quantitativement et qualitativement adéquate.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **moyen**. Les effets rénaux, principalement au niveau tubulaire, apparaissent à des concentrations faibles aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. Bien qu'étant observé uniquement chez les rats mâles, le CES a retenu la caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales mis en évidence dans l'étude de Maltoni *et al.* (1988) car de mêmes lésions tubulaires rénales ont également été observées, mais à des concentrations plus fortes, chez les rats femelles et chez des souris des deux sexes suite à une exposition par voie orale (NCI, 1976 ; NTP, 1988 et 1990). Cependant, même si le principal mécanisme de la néphrotoxicité du TCE est lié aux métabolites issus de la voie de conjugaison au glutathion tels que la DCVC et ses métabolites, il n'est aujourd'hui pas possible d'écarter un mécanisme d'action impliquant l'acide formique dû à la formation de TCOH ou de TCA à partir de TCE.
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **fort**. Maltoni *et al.* ont réalisé une étude sur 104 semaines chez les rats et les souris dans une gamme de concentrations correcte permettant de voir une relation dose-effet.
- Niveau de confiance dans le choix de la concentration critique : **moyen**. Les données étaient de qualité suffisante pour permettre une modélisation BMC. Des doutes subsistent sur le choix de la « *dose metric* » à utiliser pour l'ajustement allométrique.

Le niveau de confiance global pour cette VTR chronique est donc moyen/fort.

6.4 Proposition de VTR subchronique

Les résultats de modélisation cinétique de TCE indiquent que la concentration sanguine de DCVC atteint un état d'équilibre après environ 2 semaines d'exposition continue à la $BMCL_{ADJ\ HEC}$ et qu'une durée d'exposition plus longue ne génère *a priori* pas de concentration sanguine de DCVC plus élevée. Ce résultat appuie l'approche récente de l'ATSDR d'adopter la VTR chronique en tant que VTR subchronique. En effet, une exposition continue à la $BMCL_{ADJ\ HEC}$ entre 21 jours et 90 jours générera une même concentration sanguine de DCVC. L'intensification des effets rénaux sera par conséquent improbable.

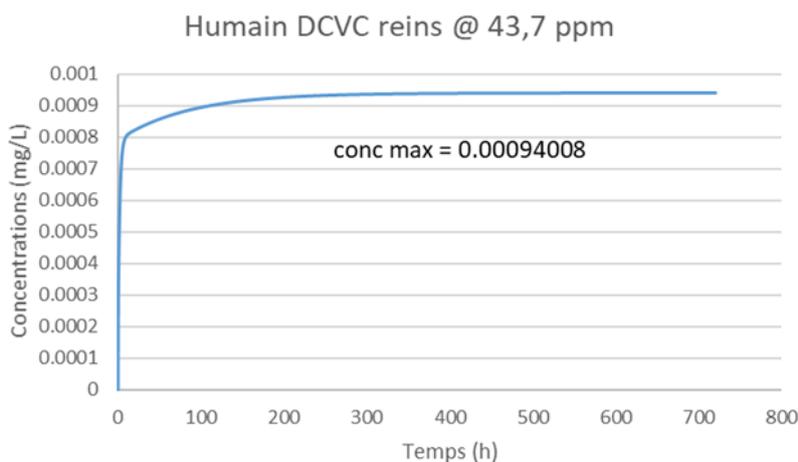


Figure 7 : Simulation d'une exposition continue sur une durée d'exposition subchronique à la $BMCL_{ADJ\ HEC}$ de 43,7 ppm à l'aide du modèle PBPK de Covington *et al.* (2006)

Les experts du CES retiennent donc comme VTR subchronique, la VTR chronique sur la base de l'étude de Maltoni *et al.* (1988) avec comme effet critique des effets rénaux (caryocytomégalie des cellules tubulaires rénales).

Le niveau de confiance global attribué à cette VTR est le même que celui de la VTR chronique, à savoir moyen/fort.

7 Proposition de VTR chronique sans seuil

7.1 Choix de l'effet critique

Chez l'Homme, le TCE est associé à la survenue de divers cancers, principalement les cancers rénaux, les lymphomes non-Hodgkinien (LNH) et les cancers hépato-biliaires.

Une association significative entre l'incidence de cancer du rein et l'exposition au TCE a été observée dans de nombreuses études épidémiologiques, aussi bien dans des études de cohorte en milieu professionnel (Zhao *et al.*, 2005 ; Raaschou-Nielsen *et al.*, 2003 ; Henschler *et al.*, 1995), dans des études cas-témoins (Moore *et al.*, 2011 ; Charbotel *et al.*, 2006 ; Brüning *et al.*, 2003 ; Pesch *et al.*, 2000 ; Dosemeci *et al.*, 1999 ; Vamvakas *et al.*, 1998) que dans des méta-analyse (Karami *et al.*, 2012 ; Scott et Jinot, 2011 ; Kelsch *et al.*, 2010).

Le CIRC (2012) et le NTP (2015) ont conclu que le niveau de preuve était limité pour l'association entre les LNH et l'exposition au TCE. Les études épidémiologiques fournissent également des preuves limitées d'une association causale pour les cancers hépato-biliaires.

Chez l'animal, les études montrent que le TCE est un cancérigène multi-site (augmentation des tumeurs du foie, des reins, des poumons, des testicules).

Ainsi, le CES retient le cancer du rein comme effet critique.

7.2 Choix de l'hypothèse de construction

Il a été envisagé de déterminer un seuil d'effet. En effet, certains auteurs tels que Lock et Reed (2006) privilégient, pour le cancer du rein, le mécanisme impliquant la conjugaison du TCE au glutathion suivie de la formation de métabolites électrophiles. Ils estiment qu'il existe un seuil en-dessous duquel aucune atteinte rénale n'est attendue. Cependant, le présent rapport rappelle à juste titre, d'une part la complexité et les incertitudes existantes sur le mécanisme d'action génotoxique du TCE, et d'autre part la formation de métabolites génotoxiques avérés (principalement au niveau rénal). Certaines études soulignent d'ailleurs la difficulté à l'heure actuelle de déterminer quels sont les métabolites responsables des effets génotoxiques du TCE et quelle est leur pertinence chez l'Homme (Caldwell et Keshava, 2006). L'ensemble de ces données doit donc conduire à une grande prudence et il n'est pas possible de tirer des conclusions quant à la présence d'une concentration d'exposition en-dessous de laquelle il n'y aurait pas d'effet génotoxique. Par conséquent, le CES retient **une approche sans seuil** pour la construction de VTR par voie respiratoire pour le TCE.

De plus, en 2014, l'ECHA a réalisé une synthèse des approches utilisées par les institutions et organismes internationaux (OMS, UE, AGS, SCOEL, US EPA, Afsset/Anses). En tenant compte de la formation de plusieurs métabolites génotoxiques et de l'absence d'explication adéquate d'un mode d'action non génotoxique du TCE, **tous les groupes d'experts, à l'exception du SCOEL (2009), considèrent qu'une approche sans seuil est la plus appropriée pour l'estimation du risque de cancer.**

L'AGS a proposé de considérer une relation dose-réponse sans seuil mais sub-linéaire pour le risque de cancers rénaux induits par le TCE sur la base de données mécanistiques. En effet, de fortes expositions professionnelles incluant des pics d'exposition conduisent à des effets cytotoxiques responsables des lésions tubulaires rénales qui contribueraient de manière décisive à l'apparition de cancers, en initiant une prolifération cellulaire. Le risque de cancer du rein est considéré comme plus faible en dessous des niveaux d'exposition entraînant une réponse cytotoxique. Ainsi, une relation linéaire surestimerait le risque pour de faibles niveaux d'exposition. Bien que l'approche de l'AGS ait l'avantage de coller à la réalité épidémiologique et prend en compte les hypothèses mécanistiques, les études utilisées pour justifier le point d'inflexion de la courbe présentent des limites et leur utilisation est discutable (cf. §7.3). De ce fait, **le CES retient une approche linéaire sans seuil pour construire sa VTR cancérigène qui a l'avantage d'être plus protectrice.**

7.3 Analyse des VTR chroniques sans seuil existantes

Cinq organismes ont proposé des VTR cancérigènes : Santé Canada (1993), OEHHA (2009), OMS (2000), US EPA (2011) et ECHA (2014).

La VTR proposée par Santé Canada a été rejetée en 2006 lors de l'élaboration de sa VGAI provisoire car il n'y a pas de données épidémiologiques qui semblent corroborer des tumeurs des cellules de Leydig induits par le TCE chez l'Homme et car les données toxicologiques récentes n'ont pas considéré le cancer des testicules comme un effet critique chez l'Homme (INSPQ, 2011). Les VTR proposées par Santé Canada, l'OEHHA et l'OMS sont fondées sur des tumeurs observées chez l'animal (tumeurs hépatocellulaires ou pulmonaires chez des souris mâles et tumeurs pulmonaires et lymphomes malins chez des souris femelles, tumeurs des cellules de Leydig chez des rats). Ces VTR n'ont pas été retenues par le CES VSR car :

- Le mécanisme d'action des tumeurs hépatiques et pulmonaires observées chez les souris n'est pas transposable chez l'Homme ;
- Concernant les lymphomes observés dans l'étude d'Henschler *et al.* (1980), des limites méthodologiques (2 concentrations testées, nombre d'animaux insuffisants) rendent difficiles l'interprétation des résultats ;
- Les tumeurs des cellules de Leydig apparues chez l'animal dans l'étude de Maltoni *et al.* (1988) ne sont pas des effets pertinents à retenir pour la construction d'une VTR, car elles sont spécifiques de l'espèce et du genre. En effet, il n'a pas été mis en évidence de cancer des testicules chez l'homme (US EPA, 2011). En revanche, des études épidémiologiques ont mis en évidence des cancers de la prostate chez l'homme et des seins et de l'utérus chez la femme. Chez l'animal, Les études expérimentales ont mis en évidence des cancers de la prostate et des testicules chez les mâles et des cancers de l'utérus, des ovaires, des glandes mammaires, de l'appareil génital chez les femelles. Seule l'étude de Maltoni *et al.* (1988) a mis en évidence une augmentation des tumeurs de cellules de Leydig suite à une exposition par voie respiratoire pendant 104 semaines.

En 2014, l'ECHA a proposé une DNEL pour la population générale fondée sur l'approche de l'AGS. L'objectif de l'AGS était clairement de proposer une démarche de proposition d'excès de risque sans pour autant valider le modèle développé pour le TCE. L'approche de l'AGS a

l'avantage de coller à la réalité épidémiologique et prend en compte les hypothèses mécanistiques. Cependant, le modèle proposé par l'AGS présente de nombreuses limites :

- L'étude qui a servi à estimer le niveau d'exposition (Roller, 2005) est non publiée ce qui entraîne un manque de transparence pour comprendre la démarche de calcul de la concentration cumulée sur 40 ans de 3000 ppm-années, servant de calcul du POD à 75 ppm.
- Les études utilisées pour justifier le point d'inflexion de la courbe à 6 ppm présentent plusieurs limites :
 - L'étude de Selden *et al.* (1993) a été réalisée sur 29 personnes sans groupe témoin. Seul un prélèvement par personne a été conduit en fin de semaine de travail, soit 29 prélèvements par milieu (pour un travailleur, un prélèvement atmosphérique en zone respiratoire et un prélèvement urinaire le lendemain matin). Les niveaux d'exposition sont peu décrits dans la publication et aucune évaluation n'a été réalisée. Les auteurs indiquent que le nombre d'heures d'exposition au TCE durant la semaine de travail avant le prélèvement varie de 0 à 32h par personne (moyenne = 11,3h ; médiane = 6h) indiquant un profil d'exposition individuel très irrégulier. L'objectif de cette publication était clairement de démontrer une relation entre l'exposition au TCE et la présence d'un marqueur urinaire. L'étude montre une faible, mais significative, corrélation entre la NAG et le TCA uniquement. Cette corrélation n'existe que du fait d'une valeur extrême. A noter que les auteurs eux-mêmes doutent de la signification du résultat.
 - Green *et al.* calculent indirectement l'exposition par inhalation en indiquant une corrélation entre l'exposition au TCE et les concentrations urinaires de TCA sur la base d'une équivalence entre une concentration de 100 mg/L et une exposition au TCE de 50 ppm. Les profils d'exposition concernent une population de 70 travailleurs et présentent un intervalle large avec une durée moyenne d'exposition de 4,1 années (1 – 20 années) pour une concentration moyenne évaluée à 32 ppm. Seule l'augmentation de l'activité de la GST est corrélée au TCA. De plus, les auteurs n'ont pas réalisé d'analyse des co-expositions éventuelles à des métaux néphrotoxiques (par exemple le cadmium). Enfin, il faut noter que l'étude de Green *et al.* a été soutenue financièrement notamment par l'association européenne des solvants chlorés (European Chlorinated Solvents Association).
- Leur utilisation par l'AGS est discutable.
 - Dans leur étude, Green *et al.* considèrent que l'augmentation de la NAG et de l'albuminurie, bien que significative, ne constitue pas un effet adverse, et concluent donc que ces données traduisent l'absence d'effet en deçà de 250 ppm. L'AGS considère au contraire que l'augmentation de ces marqueurs, bien que non corrélée aux taux urinaires de TCA donc à l'exposition au TCE, constitue un effet critique.
 - Pourtant, comme le soulignent les auteurs de l'étude, la NAG n'est pas le marqueur rénal le plus spécifique et le plus précoce à retenir. Quant à l'albuminurie, elle ne signe pas directement une atteinte tubulaire proximale.
 - Considérant cet effet critique, l'AGS prend comme LOAEC la moyenne d'exposition des travailleurs exposés de l'étude de Green *et al.*, soit 32 ppm, ce qui traduit mal l'absence de relation dose-effet entre 0,5 et 252 ppm.

- Dans l'étude de Selden *et al.*, l'AGS a considéré uniquement les 23 individus présentant les plus faibles niveaux d'exposition parmi les 29 exposés, sans fournir d'explication sur l'exclusion des 6 valeurs les plus hautes. On note qu'en se fondant sur la même étude, le SCOEL a retenu les 25 valeurs les plus hautes.

L'ERU par voie respiratoire de l'US EPA a été analysé par les experts du GT VTR et du CES « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » (mandat 2010-2013) en 2013 et n'avait, alors, pas été retenu (Anses, 2013). Dans le cadre de ses nouveaux travaux, le CES VSR a réanalysé cet ERU par inhalation et les données sources. Au regard du Tableau 45, il a été conclu que les principales limites identifiées en 2013 pouvaient être levées. Notamment, le fait que l'ERU soit élaboré à partir d'une estimation de l'exposition représentant une exposition combinée (voie respiratoire et une certaine pénétration cutanée due au dépôt de vapeurs de solvant sur la peau) ne permet pas de rejeter cet ERU.

Cependant, le CES ne retient pas l'ERU combiné pour le cancer du rein, les lymphomes non-hodgkiniens et les cancers du foie et des voies biliaires proposé par l'US EPA dans la mesure où les seules tumeurs pour lesquelles il y ait des preuves épidémiologiques suffisantes d'un excès de risque associé à l'exposition au TCE et pour lesquelles la relation dose-réponse est bien caractérisée sont les tumeurs rénales. **Ainsi, le CES recommande l'utilisation de la VTR de l'US EPA fondée sur les cancers rénaux.**

L'US EPA recommande également l'utilisation d'un facteur d'incertitude spécifique aux enfants (ADAF) lors du calcul de risque. Cependant, le CES considère qu'il n'y a pas de preuve d'une sensibilité particulière des enfants aux effets cancérigènes du TCE. En conséquence, **aucun facteur d'incertitude spécifique aux enfants ne nécessite d'être utilisé.**

Tableau 45 : Réanalyse de l'excès de risque unitaire de l'US EPA (2011)

	Limites identifiées en 2013 (Anses, 2013)	Réanalyse - 2018
Méthode de construction	L'US EPA a employé une méthode de construction ne suivant pas les guides méthodologiques de construction de VTR de l'US EPA en construisant des ERU à partir de toutes les études mettant en évidence une relation dose-réponse.	L'US EPA a, en effet, construit plusieurs excès de risque unitaire à partir des différentes études animales disponibles (inhalation et voie orale). En revanche, l'US EPA a retenu une seule étude épidémiologique parmi celles présentant une association positive entre TCE et cancer rénal et suffisamment d'information sur la relation exposition-réponse pour une analyse dose-réponse (cf. §4.3.2.4).
Choix de l'étude clé	<p>L'étude de Charbotel <i>et al.</i> paraît bien menée avec une bonne évaluation rétrospective des expositions et en particulier la réalisation d'un indice cumulé qui prend en compte l'exposition cutanée et par inhalation. Les résultats montrent une association entre une forte exposition cumulée pendant une période professionnelle et le risque de cancer rénal qui reste significative après ajustement sur le tabagisme et l'IMC.</p> <p>En revanche, la significativité disparaît lorsque le modèle prend en compte l'exposition aux huiles de coupe et de pétrole. Cependant, l'OR reste élevé (OR = 1,96 IC_{95%} = 0,71-5,37). On ne peut exclure qu'une plus grande puissance de l'étude aurait pu aboutir à un résultat statistiquement significatif. Du fait des expositions concomitantes au TCE et aux huiles de coupe et de pétrole, les auteurs reconnaissent que le rôle de ces facteurs de confusion ne peut être exclu (Charbotel <i>et al.</i>, 2009).</p>	<p>L'étude de Charbotel <i>et al.</i> (2006) est une étude de bonne qualité scientifique, qui a l'avantage de présenter une évaluation des expositions détaillées, de présenter une association positive et statistiquement significative entre l'exposition au TCE et le cancer rénal et de mettre en évidence une relation dose-réponse (exposition cumulée : OR = 2,16 ; IC_{95%} = 1,02-4,60 et exposition cumulée associée à des pics : OR = 2,73 ; IC_{95%} = 1,06-7,07).</p> <p>Afin de vérifier le choix de cette étude comme étude clé, le CES a recensé les études mettant en évidence une association positive entre cancer rénal et exposition au TCE (études de cohortes : Zhao <i>et al.</i>, 2005 ; Raaschou-Nielsen <i>et al.</i>, 2003 ; Henschler <i>et al.</i>, 1995 ; Sinks <i>et al.</i>, 1992 ; études cas témoins : Moore <i>et al.</i>, 2010 ; Charbotel <i>et al.</i>, 2006, 2007, 2009 ; Fevotte <i>et al.</i>, 2006 ; Brüning <i>et al.</i>, 2003 ; Pesch <i>et al.</i>, 2000 ; Dosemeci <i>et al.</i>, 1999 ; Vamvakas <i>et al.</i>, 1998). Seule l'étude de cohorte de Zhao <i>et al.</i> (2005) et les études cas témoins réalisées par Moore <i>et al.</i> (2010) et Charbotel <i>et al.</i> (2006) ont mis en évidence une relation dose-réponse. L'annexe 3 présente une analyse détaillée de ces études en mettant en avant les points forts et les limites de chacune. Cette analyse conforte le choix de l'étude de Charbotel <i>et al.</i> comme étude clé.</p> <p>Charbotel <i>et al.</i> ont réalisé un ajustement sur des co-expositions aux fluides de coupe et huiles pétrolières car celles-ci ont été identifiées, par ces auteurs, comme un facteur de risque possible de cancer rénal (Charbotel <i>et al.</i>, 2006 ; Mandel <i>et al.</i>, 1995) et que l'exposition au TCE était fortement associé avec l'exposition aux fluides de coupe et aux huiles pétrolières : 22 des 37 cas exposés au TCE étaient également exposés aux fluides de coupe. Cependant, après ajustement sur les co-expositions aux fluides de coupe et aux autres huiles pétrolières, les auteurs ont observé une perte de significativité statistique des OR après (exposition cumulée : OR = 1,96 ; IC_{95%} = 0,71-5,37 et exposition cumulée associée à des pics : OR = 2,63 ; IC_{95%} = 0,79-8,83) ce qui constitue le principal inconvénient de cette étude. Les chiffres restent, malgré tout, toujours élevés par rapport aux témoins. De plus, l'OR pour le cancer rénal ajusté sur les co-expositions aux fluides de coupe et autres huiles pétrolières était semblable aux OR non ajustés sur ces mêmes co-expositions, aussi bien pour les fortes expositions cumulées (1,96 ; IC_{95%} = 0,71-5,37 vs 2,16 ; IC_{95%} = 1,02-4,60) que pour les fortes expositions cumulées + pic (2,63 ; IC_{95%} = 0,79-8,83 vs 2,73 ; IC_{95%} = 1,06-7,07). En outre, les évaluations des co-expositions pertinentes</p>

peuvent être jugées comme protectrices, puisque celle des fluides de coupe notamment est à la limite de significativité à 10% (tout niveau d'exposition : OR = 1,60 ; IC_{95%} = 0,93-2,71). En 2009, Charbotel *et al.* ont complété leur étude par une analyse en sous-groupes considérant simultanément l'exposition aux fluides de coupe, au TCE ou au 2 après ajustement sur le tabagisme, l'IMC, l'âge, le sexe et l'exposition à d'autres huiles (Tableau 46). Elle met en évidence une augmentation non significative du risque de cancer du rein chez les sujets exposés uniquement aux huiles de coupe ou uniquement au TCE. La seule association significative concerne les sujets exposés aux huiles de coupe et au TCE au-delà de 50 ppm. Ces résultats confirment l'effet du TCE sur le cancer du rein.

Tableau 46 : Analyse du risque de cancer du rein en fonction de l'exposition aux huiles de coupe et au TCE (Charbotel *et al.*, 2009)

	Cas (n = 86)	Témoins (n = 316)	OR brut	OR ajusté sur le tabagisme, l'IMC et l'exposition aux autres huiles
Non exposés aux deux	46 (53,5 %)	200 (63,3 %)	1	1
Exposés aux huiles de coupe sans TCE	3 (3,5 %)	6 (1,9 %)	2,35 (0,54–10,27)	2,39 (0,52–11,03)
Exposés au TCE sans huile	15 (17,4 %)	46 (14,6 %)	1,54 (0,77–3,08)	1,62 (0,76–3,44)
Exposés aux deux mais TCE < 50 ppm	12 (14,0 %)	47 (14,9 %)	1,27 (0,61–2,63)	1,14 (0,49–2,66)
Exposés aux deux mais TCE ≥ 50 ppm	10 (11,6 %)	17 (5,4 %)	3,09 (1,27–7,52)	2,70 (1,02–7,17)

Deux autres études cas-témoins ont examiné l'effet d'expositions professionnelles aux fluides de coupe sur le risque de cancer du rein (Karami *et al.*, 2011 ; Brüning *et al.*, 2003). Bien que Brüning *et al.* rapporté un OR de 2,1 (IC_{95%} = 0,66-6,70) pour l'exposition auto-évaluée aux fluides de coupe associée au cancer du rein, l'exposition aux fluides de coupe ne semblait pas fortement corrélée à l'exposition au TCE, puisque seuls 5 cas ont rapporté une exposition aux fluides de coupe comparativement à 25 cas rapportant une exposition au TCE (Brüning *et al.*, 2003). Karami *et al.* (2011) ont examiné l'exposition aux huiles minérales ou aux fluides de coupe parmi les cas et les témoins issus de l'étude de Moore *et al.* (2010). Ils ont rapporté un OR de 0,8 (IC_{95%} = 0,6-1,1) et 1,1 (IC_{95%} = 0,8-1,4) pour les brouillards de fluide de coupe ou autres brouillards d'huile minérale respectivement. De plus, les fluides de coupe et les huiles minérales n'ont pas été associées au cancer du rein dans d'autres études de cohortes ou études cas-témoins (Mirer, 2010 ; NIOSH, 1998 cités dans US EPA, 2011), qui fournissent un soutien supplémentaire à la confusion potentielle par les fluides de coupe comme étant une faible préoccupation.

Enfin, l'ajustement réalisé dans l'étude de Charbotel *et al.* semble protecteur car le lien de causalité entre les fluides de coupe et de huiles pétrolières et le cancer rénal n'est pas aujourd'hui avéré.

	<p>La reconstruction de l'exposition est très bien documentée mais reste néanmoins un exercice difficile, compliqué ici par le fait que les expositions de certains cas ou témoins pouvaient être très anciennes et dater d'époques au cours desquelles la qualité du TCE utilisé a pu évoluer.</p> <p>Le fait d'utiliser des expositions combinées (inhalation et cutanée) rend difficile l'utilisation de ces chiffres pour l'établissement d'une VTR par inhalation.</p>	<p>Le CES est en accord avec l'analyse réalisée sur la reconstruction de l'exposition.</p> <p>L'estimation de l'exposition <i>via</i> la matrice emploi-exposition représente l'absorption globale de la voie respiratoire et une certaine pénétration cutanée due au dépôt de vapeurs de solvant sur la peau nue des mains, de l'avant-bras ou du visage. La durée de la tâche et diverses circonstances d'exposition, telles que la distance de la source de TCE ou l'utilisation d'équipements de protection individuelle ou collective, ont été introduites comme facteurs correctifs (additifs ou soustractifs) dans les calculs d'exposition.</p> <p>Pour prendre en compte l'exposition cutanée par trempage de la main, Fevotte <i>et al.</i> ont assimilé cette exposition cutanée à une concentration équivalente dans l'air, d'après des données de surveillance biologique.</p> <p>Ainsi, l'exploitation des données d'expositions combinées (inhalation et cutanée) constitue une limite à l'utilisation de cette étude pour l'établissement d'une VTR par inhalation uniquement mais n'est pas considérée par les experts comme un point bloquant.</p>
		<p>Considérant tous ces éléments, le CES est en accord avec le choix de l'US EPA, à savoir retenir l'étude de Charbotel <i>et al.</i> (2006) comme étude clé pour construire son ERU par inhalation.</p> <p>De plus, ce choix est conforté par les résultats des tests d'hétérogénéité des méta-analyses, qui montrent qu'il n'y a pas d'hétérogénéité dans les résultats des études étudiant l'association entre cancer rénal et TCE.</p>
Point de départ	L'application de tables de survie américaines associée à des données d'incidence françaises est contestable.	Selon l'US EPA, les bruits de fond de cancer du rein entre les États-Unis et la France, en 2006, sont similaires, avec des taux d'incidence ajustés en fonction de l'âge estimés à 14,1 pour 100 000 aux États-Unis (Surveillance, Epidemiology, and End Results) et à 10,4 pour 100 000 en France (Observatoire européen du cancer).
Ajustement	Le fait d'ajuster l'excès de risque calculé pour le cancer du rein sur le risque potentiel de tumeurs multi-sites en appliquant un facteur multiplicatif est discutable car peu habituel dans les constructions de VTR. Le cumul de tumeurs concernant différents organes est inhabituel et non recommandé dans les pratiques françaises. Le cumul de ces tumeurs explique à lui seul 40% de la différence entre l'ERU proposé par l'US EPA en 2011 et celui retenu par l'Anses pour supporter la VGAI long terme et les effets sans seuil du TCE (OMS, 2000). La différence résiduelle entre ces ERU (facteur 6) est considérée comme faible au regard des incertitudes pesant sur l'élaboration des VTR en général et des limites de l'étude retenue par l'US	Le CES ne retient pas cet ajustement sur d'autres types de cancer. En effet, les autres localisations cancéreuses apparaissent plus hypothétiques, et ne semblent pas survenir à des niveaux d'exposition inférieurs.

	EPA en particulier.	
--	---------------------	--



7.4 Proposition d'une VTR cancérigène et niveau de confiance

$$\text{ERU cancer rénal} = 5,49.10^{-3} (\text{ppm})^{-1}, 10^{-6} (\mu\text{g.m}^{-3})^{-1}$$

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **fort**. De nombreuses études épidémiologiques sont disponibles et de bonne qualité.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **fort**. Le CIRC (2012) a conclu que le niveau de preuve était fort pour l'association entre les cancers rénaux et l'exposition au TCE.
- Niveau de confiance dans le choix de l'étude clé : **moyen**. L'étude de Charbotel *et al.* (2006) est une étude de bonne qualité scientifique, qui a l'avantage de présenter une évaluation des expositions détaillées et bien décrite. Cette étude présente une association positive entre cancer rénal et exposition au TCE avec une relation dose-réponse. Cependant, la significativité disparaît lorsque le modèle prend en compte l'exposition aux huiles de coupe et de pétrole. L'OR restant élevé, on ne peut exclure qu'une plus grande puissance de l'étude aurait pu aboutir à un résultat statistiquement significatif. De plus, l'exploitation des données d'expositions combinées (inhalation et cutanée) constitue une limite à l'utilisation de cette étude pour l'établissement d'une VTR par inhalation uniquement mais n'est pas considérée par les experts comme un point bloquant.
- Niveau de confiance dans le choix de la concentration critique : **fort**. Le calcul du point de départ réalisé par l'US EPA est fait intervenir des tables de survie, méthode considérée par l'ECHA comme particulièrement précise (ECHA, 2012).

Le niveau de confiance global pour cette VTR cancérigène est donc moyen/fort.

8 Conclusions du CES

Des VTR subchronique, chronique à seuil et cancérigène sans seuil, par voie respiratoire, sont proposées pour le TCE (Tableau 47).

La nature de la VTR (aiguë, subchronique, chronique) est déterminée en partie par la durée d'exposition des études toxicologiques mais également des besoins en évaluation de risques sanitaires. Pour rappel, dans le cadre des VTR et en lien avec les scénarios généralement pris en compte en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses distingue trois types de durée d'exposition :

- Pour les expositions aiguës, de 1 à 14 jours ;
- Pour les expositions subchroniques, de 15 à 364 jours ;
- Pour les expositions chroniques, à partir de 365 jours.

Concernant la VTR cancérigène sans seuil, le CES souhaite attirer l'attention sur le fait que l'ERU de l'US EPA est retenu, sans ajustement supplémentaire sur la survenue d'autres cancers, et sans recommandations de l'utilisation de facteur d'incertitude spécifique aux enfants (ADAF) lors du calcul de risque.

Tableau 47 : VTR par voie respiratoire pour le trichloroéthylène

Type de VTR	Organisme	Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
VTR aiguë	Le CES n'a pas identifié, dans la littérature, de données quantitatives de qualité suffisante sur des expositions court terme par inhalation pour construire une VTR aiguë malgré l'existence d'effet neurologique. Ainsi, le CES ne propose pas de VTR aiguë.				
VTR subchronique	Anses	Reprise de la VTR chronique			3,2 mg.m ⁻³ (0,58 ppm) Niveau de confiance moyen/fort
VTR chronique	Anses	Effet rénal observé chez des rats mâles Maltoni <i>et al.</i> (1988)	NOAEC = 100 ppm LOAEC = 300 ppm BMC _{10%} L _{90%} = 238 ppm <u>Ajustement temporel</u> BMC _{10%} L _{90%} ADJ = 238 x 5/7 x 7/24 = 49,6 ppm <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{10%} L _{90%} ADJ = 43,7 ppm (DCVC)	75 UF _A = 2,5 UF _H = 10 UF _D = 3	3,2 mg.m ⁻³ (0,58 ppm) Niveau de confiance moyen/fort
VTR cancérogène	US EPA	Carcinome rénal Charbotel <i>et al.</i> (2006)	Régression linéaire avec utilisation de tables de survie américaine, estimation de taux d'incidence « de fond » de cancer rénal, et conversion des données d'exposition professionnelle en exposition environnementale → POD = LEC ₀₁ = 1,82 ppm Extrapolation linéaire à l'origine → ERU _{cancer rein} = 5,49.10 ⁻³ (ppm) ⁻¹		10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹ 5,49.10 ⁻³ (ppm) ⁻¹ Concentrations associées à plusieurs niveaux de risques : 10⁻⁴ : 100 µg.m⁻³ 10⁻⁵ : 10 µg.m⁻³ 10⁻⁶ : 1 µg.m⁻³ Niveau de confiance moyen/fort

Le rapport a été validé à la majorité des experts présents (14 sur 15 experts présents). Un expert a choisi de s'abstenir : « L'expertise qui a été menée par le CES est complète et de bonne qualité, toutefois, il aurait été intéressant de pouvoir proposer une valeur utilisable pour des expositions aiguës. La démarche a bien été discutée lors des différentes étapes de genèse du dossier mais n'a pas permis d'aboutir à un consensus en raison de la faiblesse des données disponibles. »

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé :
22 juin 2018

Signature :

Maisons-Alfort, le _____,

Au nom des experts du CES « Valeurs sanitaires de référence »,
page 15 de 24, Juin 2018

Dr Fabrice MICHIELS
Président du CES

9 Bibliographie TCE

9.1 Publications

- Afsset. (2009). Avis et rapport d'expertise collective relatif à la proposition de valeurs guides de qualité d'air intérieur. Trichloroéthylène (TCE). Maisons-Alfort : Anses, 75p. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/system/files/AIR2004etVG006Ra.pdf>
- AGS (2008). Committee on hazardous substances (Ausschuss für Gefahrstoffe). Guide for the quantification of cancer risk figures after exposure to carcinogenic hazardous substances for establishing limit values at the workplace. Dresde, AGS, 90 p.
- Anses. (2013) Avis et rapport d'expertise collective relatif à l'analyse des valeurs toxicologiques de référence par inhalation de l'US EPA pour le trichloroéthylène et le perchloroéthylène. (saisine 2012-SA-0140). Maisons-Alfort : Anses, 54p. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/system/files/CHIM2012sa0140Ra.pdf>
- Anses. (2017a). Rapport d'expertise collective relatif aux valeurs toxicologiques de référence. Guide d'élaboration de l'Anses. (saisine 2007-SA-0432). Maisons-Alfort : Anses, 156p. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBSTANCES2017SA0016Ra.pdf>
- Anses. (2017b) Avis et rapport d'expertise collective relatif à l'analyse des valeurs toxicologiques de référence par inhalation de l'US EPA pour le trichloroéthylène et le perchloroéthylène. (saisine 2017-SA-0016). Maisons-Alfort : Anses, 186p. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBSTANCES2017SA0016Ra.pdf>
- Alexander DD, Kelsh MA, Mink PJ, Mandel JH, Basu R, Weingart M. (2007). A meta-analysis of occupational trichloroethylene exposure and liver cancer. *Int Arch Occup Environ Health*. 2007 Nov;81(2):127-43.
- Anttila A, Pukkala E, Sallmén M, Hernberg S, Hemminki K. (1995). Cancer incidence among Finnish workers exposed to halogenated hydrocarbons. *J Occup Environ Med*. 1995 Jul;37(7):797-806.
- ATSDR. (2014). Draft. Toxicological Profile for Trichloroethylene. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 472 p.
- Astrand, I. and P. Ovrum, (1976). Exposure to trichloroethylene I. Uptake and distribution in man. *Scand J Work Environ Health*, 1976. 2(4): p. 199-211.
- Axelsson O, Seldén A, Andersson K, Hogstedt C. (1994). Updated and expanded Swedish cohort study on trichloroethylene and cancer risk. *J Occup Med*. 1994 May;36(5):556-62.
- Bahr DE, Aldrich TE, Seidu D, Brion GM, Tollerud DJ; Paducah Gaseous Diffusion Plant Project Team, Muldoon S, Reinhart N, Youssefagha A, McKinney P, Hughes T, Chan C, Rice C, Brewer DE, Freyberg RW, Mohlenkamp AM, Hahn K, Hornung R, Ho M, Dastidar A, Freitas S, Saman D, Ravdal H, Scutchfield D; Contractors, Eger KJ, Minor S. (2011). Occupational exposure to trichloroethylene and cancer risk for workers at the Paducah Gaseous Diffusion Plant. *Int J Occup Med Environ Health*. 2011 Mar;24(1):67-77.
- Blair A, Hartge P, Stewart PA, McAdams M, Lubin J. (1998). Mortality and cancer incidence of aircraft maintenance workers exposed to trichloroethylene and other organic solvents and chemicals: extended follow up. *Occup Environ Med*. 1998 Mar;55(3):161-71.
- Blossom SJ, Melnyk S, Cooney CA, Gilbert KM, James SJ. (2012). Postnatal exposure to trichloroethylene alters glutathione redox homeostasis, methylation potential, and neurotrophin expression in the mouse hippocampus. *Neurotoxicology*. 2012 Dec;33(6):1518-27.
- Boice JD Jr, Marano DE, Cohen SS, Mumma MT, Blot WJ, Brill AB, Fryzek JP, Henderson BE, McLaughlin JK. (1999). Mortality among Rocketdyne workers who tested rocket engines, 1948-1999. *J Occup Environ Med*. 2006 Oct;48(10):1070-92.

- Bois FY. (2000a) Statistical analysis of Fisher et al. PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ Health Perspect.* 2000 May;108 Suppl 2:275-82.
- Bois, FY. (2000b) Statistical analysis of Clewell *et al.* PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ Health Perspect.* 2000 May;108 Suppl 2:307-16.
- Bolt HM, Lammert M, Selinski S, Brüning T. (2004). Urinary alpha1-microglobulin excretion as biomarker of renal toxicity in trichloroethylene-exposed persons. *Int Arch Occup Environ Health.* 2004 Apr;77(3):186-90.
- Bond GR. Hepatitis, rash and eosinophilia following trichloroethylene exposure: a case report and speculation on mechanistic similarity to halothane induced hepatitis. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1996;34(4):461-6.
- Boverhof DR, Krieger SM, Hotchkiss JA, Stebbins KE, Thomas J, Woolhiser MR. (2013). Assessment of the immunotoxic potential of trichloroethylene and perchloroethylene in rats following inhalation exposure. *J Immunotoxicol.* 2013 Jul-Sep;10(3):311-20.
- Brasington RD Jr, Thorpe-Swenson AJ. (1991). Systemic sclerosis associated with cutaneous exposure to solvent: case report and review of the literature. *Arthritis Rheum.* 1991 May;34(5):631-3.
- Brüning T, Pesch B, Wiesenhütter B, Rabstein S, Lammert M, Baumüller A, Bolt HM. (2003). Renal cell cancer risk and occupational exposure to trichloroethylene: results of a consecutive case-control study in Arnsberg, Germany. *Am J Ind Med.* 2003 Mar;43(3):274-85.
- Brüning T, Sundberg AG, Birner G, Lammert M, Bolt HM, Appelkvist EL, Nilsson R, Dallner G. (1999). Glutathione transferase alpha as a marker for tubular damage after trichloroethylene exposure. *Arch Toxicol.* 1999 Jun-Jul;73(4-5):246-54.
- Brüning T, Mann H, Melzer H, Sundberg AG, Bolt HM. (1999). Pathological excretion patterns of urinary proteins in renal cell cancer patients exposed to trichloroethylene. *Occup Med (Lond).* 1999 Jul;49(5):299-305.
- Brüning T, Golka K, Makropoulos V, Bolt HM. (1996). Preexistence of chronic tubular damage in cases of renal cell cancer after long and high exposure to trichloroethylene. *Arch Toxicol.* 1996;70(3-4):259-60.
- Buhagen M, Grønskag A, Ragde SF, Hilt B. (2016). Association Between Kidney Cancer and Occupational Exposure to Trichloroethylene. *J Occup Environ Med.* 2016 Sep;58(9):957-9.
- Bukowski J. (2014). Critical review of the epidemiologic literature regarding the association between congenital heart defects and exposure to trichloroethylene. *Crit Rev Toxicol.* 2014 Aug;44(7):581-9.
- Caldwell JC, Keshava N. (2006). Key issues in the modes of action and effects of trichloroethylene metabolites for liver and kidney tumorigenesis. *Environ Health Perspect.* 2006 Sep;114(9):1464-70.
- Carney EW, Thorsrud BA, Dugard PH, Zabloutny CL. (2006). Developmental toxicity studies in Crl:CD (SD) rats following inhalation exposure to trichloroethylene and perchloroethylene. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2006 Oct;77(5):405-12.
- CE. (2004). Risk Assessment Report for trichloroethylene, CAS No: 79-01-6, EINECS No: 201-167-4, European Union, European Chemicals Bureau, Existing Chemicals. Joint Research Center. EUR 21057EN. 1st Priority List. Volume 31. Final Report. United Kingdom: Commission européenne, 348 p.
- Charbotel B, Fevotte J, Martin JL, Bergeret A. (2009). Cancer du rein et expositions au trichloroéthylène: les valeurs limites d'exposition professionnelle françaises en vigueur sont-elles adaptées. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2009 Feb;57(1):41-7.
- Charbotel B, Gad S, Caïola D, Bérout C, Fevotte J, Bergeret A, Ferlicot S, Richard S. (2007). Trichloroethylene exposure and somatic mutations of the VHL gene in patients with Renal Cell Carcinoma. *J Occup Med Toxicol.* 2: 13.

- Charbotel B, Fevotte J, Hours M, Martin JL, Bergeret A. (2006). Case-control study on renal cell cancer and occupational exposure to trichloroethylene. Part II: Epidemiological aspects. *Ann Occup Hyg.* 2006 Nov;50(8):777-87.
- Cichocki JA, Guyton KZ, Guha N, Chiu WA, Rusyn I, Lash LH. (2016). Target Organ Metabolism, Toxicity, and Mechanisms of Trichloroethylene and Perchloroethylene: Key Similarities, Differences, and Data Gaps. *J Pharmacol Exp Ther.* 2016 Oct;359(1):110-23.
- Chiu WA, Okino MS, Evans MV. (2009). Characterizing uncertainty and population variability in the toxicokinetics of trichloroethylene and metabolites in mice, rats, and humans using an updated database, physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model, and Bayesian approach. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009 Nov 15;241(1):36-60.
- Chiu WA, Okino MS, Lipscomb JC, Evans MV. (2006) Issues in the Pharmacokinetics of Trichloroethylene and its Metabolites. *Environ Health Perspect.* 2006 Sep;114(9):1450-6.
- CIRC. (2014a). Monographie du CIRC, Volume 106, pp. 35-217 (trichloroethylene). Lyon : Centre International de Recherche sur le Cancer, 184 p.
- CIRC. (2014b). Monographie du CIRC, Volume 106, pp. 393-437 (trichloroacetic acid). Lyon : Centre International de Recherche sur le Cancer.
- CIRC. (2014c). Monographie du CIRC, Volume 106, pp. 439-474 (chloral and chloral hydrate). Lyon : Centre International de Recherche sur le Cancer.
- CIRC. (2014d). Monographie du CIRC, Volume 106, pp. 353-391 (dichloroacetic acid). Lyon : Centre International de Recherche sur le Cancer.
- Cristofori P, Sauer AV, Trevisan A. (2015). Three common pathways of nephrotoxicity induced by halogenated alkenes. *Cell Biol Toxicol.* 2015 Feb;31(1):1-13.
- Czirják L, Schlamadinger J, Szegedi G. (1933). Systemic sclerosis and exposure to trichloroethylene. *Dermatology.* 1993;186(3):236-7.
- Dai Y, Leng S, Li L, Niu Y, Huang H, Liu Q, Duan H, Cheng J, Liu Q, Zheng Y. (2009). Effects of genetic polymorphisms of N-Acetyltransferase on trichloroethylene-induced hypersensitivity dermatitis among exposed workers. *Ind Health.* 2009 Oct;47(5):479-86
- Dai YF, Niu Y, Cheng J, Leng SG, Zheng YX. (2005). Immunological mechanism in development of allergic dermatitis in guinea pig induced by trichloroethylene in vitro [chinois] (abstract) *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi.* 2005 Apr;23(2):129-31.
- De La Rosa VY, Asfaha J, Fasullo M, Loguinov A, Li P, Moore LE, Rothman N, Nakamura J, Swenberg JA, Scelo G, Zhang L, Smith MT, Vulpe CD. (2017). High-Throughput Functional Genomics Identifies Modulators of TCE Metabolite Genotoxicity and Candidate Susceptibility Genes. *Toxicol Sci.* 160(1):111-120.
- Desimone MC, Rathmell WK, Threadgill DW. (2013). Pleiotropic effects of the trichloroethylene-associated P81S VHL mutation on metabolism, apoptosis, and ATM-mediated DNA damage response. *J Natl Cancer Inst.* 2013 Sep 18;105(18):1355-64.
- DECOS. (2003). Trichloroethylene. Evaluation of the effects on reproduction, recommendation for classification. publication no.2003/09OSH. Committee for Compounds toxic to reproduction, a committee of the Health Council of the Netherlands. La Hague: Dutch Expert Committee on Occupational Safety, 48 p.
- Dumas O, Despreaux T, Perros F, Lau E, Andujar P, Humbert M, Montani D, Descatha A. (2018). Respiratory effects of trichloroethylene. *Respir Med.* 2018 Jan;134:47-53.
- Emmert B, Bünger J, Keuch K, Müller M, Emmert S, Hallier E, Westphal GA. (2006). Mutagenicity of cytochrome P450 2E1 substrates in the Ames test with the metabolic competent *S. typhimurium* strain YG7108pin3ERb5. *Toxicology* 228(1): 66-76.
- ECHA. (2014). Report. Trichloroethylene -Carcinogenicity dose-response Analysis. Helsinki : Agence européenne des produits chimiques, 91 p.

- EC. (2000). B.12 Mutagenicity – In vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. Official Journal of European Communities, No. L 136, 08/06/2000.
- Evans MV, Chiu WA, Okino MS, Caldwell JC. (2009). Development of an updated PBPK model for trichloroethylene and metabolites in mice, and its application to discern the role of oxidative metabolism in TCE-induced hepatomegaly. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009 May 1;236(3):329-40.
- Feldman RG, White RF, Currie JN, Travers PH, Lessell S. (1985). Long-term follow-up after single toxic exposure to trichloroethylene. *Am J Ind Med.* 1985;8(2):119-26.
- Fevotte J, Charbotel B, Muller-Beauté P, Martin JL, Hours M, Bergeret A. (2006). Case-control study on renal cell cancer and occupational exposure to trichloroethylene. Part I: Exposure assessment. *Ann Occup Hyg.* 2006 Nov;50(8):765-75.
- Flindt-Hansen H, Isager H. (1987). Scleroderma after occupational exposure to trichloroethylene and trichloroethane. *Acta Derm Venereol.* 1987;67(3):263-4.
- Forand SP, Lewis-Michl EL, Gomez MI. (2012). Adverse birth outcomes and maternal exposure to trichloroethylene and tetrachloroethylene through soil vapor intrusion in New York State. *Environ Health Perspect.* 2012 Apr;120(4):616-21.
- Forkert PG, Lash L, Tardif R, Tanphaichitr N, Vandevort C, Moussa M. (2003). Identification of trichloroethylene and its metabolites in human seminal fluid of workers exposed to trichloroethylene. *Drug Metab Dispos.* 2003 Mar;31(3):306-11.
- Fukuda K, Takemoto K, Tsuruta H. (1983). Inhalation carcinogenicity of trichloroethylene in mice and rats. *Ind Health.* 1983;21(4):243-54.
- Gash DM, Rutland K, Hudson NL, Sullivan PG, Bing G, Cass WA, Pandya JD, Liu M, Choi DY, Hunter RL, Gerhardt GA, Smith CD, Slevin JT, Prince TS. (2008). Trichloroethylene: Parkinsonism and complex 1 mitochondrial neurotoxicity. *Ann Neurol.* 2008 Feb;63(2):184-92.
- Gilboa SM, Desrosiers TA, Lawson C, Lupo PJ, Riehle-Colarusso TJ, Stewart PA, van Wijngaarden E, Waters MA, Correa A; National Birth Defects Prevention Study. (2012). Association between maternal occupational exposure to organic solvents and congenital heart defects, National Birth Defects Prevention Study, 1997-2002. *Occup Environ Med.* 2012 Sep;69(9):628-35.
- Green T, Dow J, Ong CN, Ng V, Ong HY, Zhuang ZX, Yang XF, Bloemen L. (2004). Biological monitoring of kidney function among workers occupationally exposed to trichloroethylene. *Occup Environ Med.* 2004 Apr;61(4):312-7.
- Gu ZW, Sele B, Jalbert P, Vincent M, Vincent F, Marka C, Chmara D, Faure J. (1981). [Induction of sister chromatid exchange by trichloroethylene and its metabolites]. *Toxicol Eur Res* 3(2): 63-67.
- Guha N, Loomis D, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Baan R, Mattock H, Straif K; International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. (2012). Carcinogenicity of trichloroethylene, tetrachloroethylene, some other chlorinated solvents, and their metabolites. *Lancet Oncol.* 2012 Dec;13(12):1192-3.
- Hansen J, Sallmén M, Seldén AI, Anttila A, Pukkala E, Andersson K, Bryngelsson IL, Raaschou-Nielsen O, Olsen JH, McLaughlin JK. (2013). Risk of cancer among workers exposed to trichloroethylene: analysis of three Nordic cohort studies. *J Natl Cancer Inst.* 2013 Jun 19;105(12):869-77
- Hansen J, Raaschou-Nielsen O, Christensen JM, Johansen I, McLaughlin JK, Lipworth L, Blot WJ, Olsen JH. (2001). Cancer incidence among Danish workers exposed to trichloroethylene. *J Occup Environ Med.* 2001 Feb;43(2):133-9.
- Henschler D, Vamvakas S, Lammert M, Dekant W, Kraus B, Thomas B, Ulm K. (1995). Increased incidence of renal cell tumors in a cohort of cardboard workers exposed to trichloroethene. *Arch Toxicol.* 1995;69(5):291-9.
- Henschler D, Romen W, Elsässer HM, Reichert D, Eder E, Radwan Z. (1980). Carcinogenicity study of trichloroethylene by longterm inhalation in three animal species. *Arch Toxicol.* 1980 Feb;43(4):237-48.

- Hu C, Jiang L, Geng C, Zhang X, Cao J, Zhong L. (2008). Possible involvement of oxidative stress in trichloroethylene-induced genotoxicity in human HepG2 cells. *Mutat Res* 652(1): 88-94.
- INERIS. (2017). Fiche de données toxicologiques et environnementales – Trichloroéthylène (INERIS–DRC-09-103112-10498B. version n°4.2-septembre 2017). Verneuil en Halatte : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, 115 p.
- INRS. (2011). Fiche toxicologique Trichloroéthylène FT22. Paris : Institut National de Recherche et de Sécurité, 12 p. Disponible sur http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_22
- INRS. (2007). Tableaux des maladies professionnelles. Régime général tableau 12. Disponible sur <http://www.inrs.fr/publications/bdd/mp/tableau.html?refINRS=RG%2012>
- INSPQ. (2011). Valeurs guides pour le trichloroéthylène dans l'air intérieur. Canada, INSPQ :41p.
- IRSST. (2010). Revue sélective de la littérature (1995 à 2009) sur la cancérogénicité du trichloroéthylène. Rapport R 654. 81 p.
- Jacob S, Héry M, Protois JC, Rossert J, Stengel B. (2007). New insight into solvent-related end-stage renal disease: occupations, products and types of solvents at risk. *Occup Environ Med*. 2007 Dec;64(12):843-8.
- Jia Q, Zang D, Yi J, Dong H, Niu Y, Zhai Q, Teng Y, Bin P, Zhou W, Huang X, Li H, Zheng Y, Dai Y. (2012). Cytokine expression in trichloroethylene-induced hypersensitivity dermatitis: an in vivo and in vitro study. *Toxicol Lett*. 2012 Nov 23;215(1):31-9.
- Johnson PD, Goldberg SJ, Mays MZ, Dawson BV. (2003). Threshold of trichloroethylene contamination in maternal drinking waters affecting fetal heart development in the rat. *Environ Health Perspect*. 2003 Mar;111(3):289-92. Erratum in: *Environ Health Perspect*. 2014 Apr;122(4):A94.
- Kaneko T, Saegusa M, Tasaka K, Sato A. (2000). Immunotoxicity of trichloroethylene: a study with MRL-lpr/lpr mice. *J Appl Toxicol*. 2000 Nov-Dec;20(6):471-5.
- Karami S, Lan Q, Rothman N, Stewart PA, Lee KM, Vermeulen R, Moore LE. (2012). Occupational trichloroethylene exposure and kidney cancer risk: a meta-analysis. *Occup Environ Med*. 2012 Dec;69(12):858-67.
- Kautiainen A, Vogel JS, Turteltaub KW. (1997). Dose-dependent binding of trichloroethylene to hepatic DNA and protein at low doses in mice. *Chem Biol Interact* 106(2):109-121.
- Keil DE, Peden-Adams MM, Wallace S, Ruiz P, Gilkeson GS. (2009). Assessment of trichloroethylene (TCE) exposure in murine strains genetically-prone and non-prone to develop autoimmune disease. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2009 Apr;44(5):443-53.
- Kelsh MA, Alexander DD, Mink PJ, Mandel JH. (2010). Occupational trichloroethylene exposure and kidney cancer: a meta-analysis. *Epidemiology*. 2010 Jan;21(1):95-102.
- Kezic S, Monster AC, Krüse J, Verberk MM. (2000). Skin absorption of some vaporous solvents in volunteers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2000;73:415-22
- Khan S, Priyamvada S, Khan SA, Khan W, Farooq N, Khan F, Yusufi AN. (2009). Effect of trichloroethylene (TCE) toxicity on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane and oxidative stress in kidney and other rat tissues. *Food Chem Toxicol*. 2009 Jul;47(7):1562-8
- Kjellstrand P, Holmquist B, Alm P, Kanje M, Romare S, Jonsson I, Månsson L, Bjerkemo M. (1983). Trichloroethylene: further studies of the effects on body and organ weights and plasma butyrylcholinesterase activity in mice. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1983 Nov;53(5):375-84.
- Kligerman AD, Bryant MF, Doerr CL, Erexson GL, Evansky PA, Kwanyuen P, McGee JK. (1994). Inhalation studies of the genotoxicity of trichloroethylene to rodents. *Mutat Res* 322(2): 87-96.
- Lan Q, Zhang L, Tang X, Shen M, Smith MT, Qiu C, Ge Y, Ji Z, Xiong J, He J, Reiss B, Hao Z, Liu S, Xie Y, Guo W, Purdue MP, Galvan N, Xin KX, Hu W, Beane Freeman LE, Blair AE, Li L, Rothman N,

- Vermeulen R, Huang H. (2010). Occupational exposure to trichloroethylene is associated with a decline in lymphocyte subsets and soluble CD27 and CD30 markers. *Carcinogenesis*. 2010 Sep;31(9):1592-6.
- Lash LH, Fisher JW, Lipscomb JC, Parker JC. (2000). Metabolism of trichloroethylene. *Environ Health Perspect*. 2000 May;108 Suppl 2:177-200.
- Lash LH., Chiu WA., Guyton KZ., Rusyn I. (2014). Trichloroethylene biotransformation and its role in mutagenicity, carcinogenicity and target organ toxicity. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 762:22-36.
- Lock EA, Reed CJ. (2006). Trichloroethylene: mechanisms of renal toxicity and renal cancer and relevance to risk assessment. *Toxicol Sci*. 2006 Jun;91(2):313-31.
- Makris SL, Scott CS, Fox J, Knudsen TB, Hotchkiss AK, Arzuaga X, Euling SY, Powers CM, Jinot J, Hogan KA, Abbott BD, Hunter ES 3rd, Narotsky MG. (2016). A systematic evaluation of the potential effects of trichloroethylene exposure on cardiac development. *Reprod Toxicol*. 2016 Oct;65:321-358.
- Maltoni C, Lefemine G, Cotti G, Perino G. (1988). Long-term carcinogenicity bioassays on trichloroethylene administered by inhalation to Sprague-Dawley rats and Swiss and B6C3F1 mice. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;534:316-42.
- Mandel JH, Kelsh MA, Mink PJ, Alexander DD, Kalmes RM, Weingart M, Yost L, Goodman M. (2006). Occupational trichloroethylene exposure and non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis and review. *Occup Environ Med*. 2006 Sep;63(9):597-607.
- Mandel JS, McLaughlin JK, Schlehofer B, Møller A, Helmer U, Lindblad P, McCredie M, Adami HO. (1995). International renal-cell cancer study. IV. Occupation. *Int J Cancer*. 1995 May 29;61(5):601-5.
- Marie I, Gehanno JF, Bubenheim M, Duval-Modeste AB, Joly P, Dominique S, Bravard P, Noël D, Cailleux AF, Weber J, Lagoutte P, Benichou J, Levesque H. (2014). Prospective study to evaluate the association between systemic sclerosis and occupational exposure and review of the literature. *Autoimmun Rev*. 2014 Feb;13(2):151-6.
- Mazzullo M, Bartoli S, Bonora B, Colacci A, Lattanzi G, Niero A, Silingardi P, Grilli S. (1992). In vivo and in vitro interaction of trichloroethylene with macromolecules from various organs of rat and mouse. *Res Comm Chem Pathol Pharmacol* 76: 192-208.
- McGregor DB, Reynolds DM, Zeiger E. (1989). Conditions affecting the mutagenicity of trichloroethylene in Salmonella. *Environ Mol Mutagen* 13(3): 197-202.
- Mhiri C, Choyakh F, Ben Hmida M, Feki I, Ben Messaud M, Zouari N. (2004). Trigeminal somatosensory evoked potentials in trichloroethylene-exposed workers. *Neurosciences (Riyadh)*. 2004 Apr;9(2):102-7.
- Montani D, Lau EM, Descatha A, Jaïs X, Savale L, Andujar P, Bensefa-Colas L, Girerd B, Zendaï I, Le Pavec J, Seferian A, Perros F, Dorfmueller P, Fadel E, Soubrier F, Sitbon O, Simonneau G, Humbert M. (2015). Occupational exposure to organic solvents: a risk factor for pulmonary veno-occlusive disease. *Eur Respir J*. 2015 Dec;46(6):1721-31.
- Moore MM, Harrington-Brock K. (2000). Mutagenicity of trichloroethylene and its metabolites: implications for the risk assessment of trichloroethylene. *Environ Health Perspect*. 2000 May;108 Suppl 2:215-23.
- Moore LE, Boffetta P, Karami S, Brennan P, Stewart PS, Hung R, Zaridze D, Matveev V, Janout V, Kollarova H, Bencko V, Navratilova M, Szeszenia-Dabrowska N, Mates D, Gromiec J, Holcatova I, Merino M, Chanock S, Chow WH, Rothman N. (2010) Occupational trichloroethylene exposure and renal carcinoma risk: evidence of genetic susceptibility by reductive metabolism gene variants. *Cancer Res*. 2010 Aug 15;70(16):6527-36.
- Nagaya T, Ishikawa N, Hata H. (1989). Sister-chromatid exchanges in lymphocytes of workers exposed to trichloroethylene. *Mutat Res* 222(3): 279-282.
- NICNAS. (2000). Trichloroethylene. Priority Existing Chemical Assessment Report No. 8. Australie, Camberra: National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme, 272 p.

- Nietert PJ, Sutherland SE, Silver RM, Pandey JP, Knapp RG, Hoel DG, Dosemeci M. (1998). Is occupational organic solvent exposure a risk factor for scleroderma? *Arthritis Rheum.* 1998 Jun;41(6):1111-8.
- Nomiyama K, Nomiyama H. (1971) Metabolism of trichloroethylene in human. Sex difference in urinary excretion of trichloroacetic acid and trichloroethanol. *Int Arch Arbeitsmed.* 1971;28(1):37-48.
- Nomiyama K, Nomiyama H. (1977). Dose-response relationship for trichloroethylene in man. *Int Arch Occup Environ Health.* 1977 Sep 15;39(4):237-48.
- NRC. (2006). *Assessing the Human Health Risks of Trichloroethylene: Key Scientific Issues.* Washington, D.C. : National Research Council of the National Academies Press, 426 p.
- NTP. (2015). Report on carcinogens. Monograph on trichloroethylene. US : National Toxicology Program, 406 p.
- OCDE. (1997). *Guidelines for Testing of Chemicals. No. 474. Genetic Toxicology: Micronucleus Test.* Paris: Organisation for Economic Co-Operation and Development
- OEHHA. (2000). Trichloroethylene. Determination of Noncancer Chronic Reference Exposure Levels. Appendix D.3 Chronic RELs and toxicity summaries using the previous version of the Hot Spots Risk Assessment guidelines (OEHHA 1999). Californie, USA: Office of Environmental Health Hazard Assessment, 581-589 p. Disponible sur <https://oehha.ca.gov/media/downloads/crn/appendixd3final.pdf>
- OEHHA. (2009). Trichloroethylene. Air Toxics Hot Spots Risk Assessment Guidelines Part II: Technical Support Document for Cancer Potency Factors". Appendix B: Chemical-specific summaries of the information used to derive unit risk and cancer potency values. Californie, USA: Office of Environmental Health Hazard Assessment, 582p.
- OMS. (2010). Chapter 8 Trichloroethylene – WHO Guidelines for indoor air quality: selected pollutants. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe: 377-141p.
- OMS. (2000). Chapter 5.15 Trichloroethylene – Air Quality Guidelines, Second Edition. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 288p. Disponible sur <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/107335/E71922.pdf;jsessionid=54156E036A6CF182157AF7CA94857E2C?sequence=1>
- Poet TS, Corley RA, Thrall KD, Edwards JA, Tanojo H, Weitz KK, Hui X, Maibach HI, Wester RC. (2000). Assessment of the percutaneous absorption of trichloroethylene in rats and humans using MS/MS real-time breath analysis and physiologically based pharmacokinetic modeling. *Toxicol Sci.* 2000 Jul;56(1):61-72.
- Pralong P, Cavailles A, Balme B, Cottin V, Skowron F. (2009). Sclérodémie systémique diffuse liée à une exposition professionnelle au trichloroéthylène et perchloréthylène. *Ann Dermatol Venereol.* 2009 Oct;136(10):713-7.
- Purdue MP, Stewart PA, Friesen MC, Colt JS, Locke SJ, Hein MJ, Waters MA, Graubard BI, Davis F, Ruterbusch J, Schwartz K, Chow WH, Rothman N, Hofmann JN. (2017). Occupational exposure to chlorinated solvents and kidney cancer: a case-control study. *Occup Environ Med.* 2017 Mar;74(4):268-274.
- Raaschou-Nielsen O, Hansen J, McLaughlin JK, Kolstad H, Christensen JM, Tarone RE, Olsen JH. (2003). Cancer risk among workers at Danish companies using trichloroethylene: a cohort study. *Am J Epidemiol.* 2003 Dec 15;158(12):1182-92.
- Radican L, Blair A, Stewart P, Wartenberg D. (2008). Mortality of aircraft maintenance workers exposed to trichloroethylene and other hydrocarbons and chemicals: extended follow-up. *J Occup Environ Med.* 2008 Nov;50(11):1306-19.
- Radican L, Wartenberg D, Rhoads GG, Schneider D, Wedeen R, Stewart P, Blair A. (2006). A retrospective occupational cohort study of end-stage renal disease in aircraft workers exposed to trichloroethylene and other hydrocarbons. *J Occup Environ Med.* 2006 Jan;48(1):1-12.

- Rasmussen K, Sabroe S, Wohler M, Ingerslev HJ, Kappel B, Nielsen J. (1988). A genotoxic study of metal workers exposed to trichloroethylene. Sperm parameters and chromosome aberrations in lymphocytes. *Int Arch Occup Environ Health* 60(6): 419-423.
- Rasmussen K, Arlien-Søborg P, Sabroe S. (1993a). Clinical neurological findings among metal degreasers exposed to chlorinated solvents. *Acta Neurol Scand.* 1993 Mar;87(3):200-4.
- Rasmussen K, Brogren CH, Sabroe S. (1993b). Subclinical affection of liver and kidney function and solvent exposure. *Int Arch Occup Environ Health.* 1993;64(6):445-8.
- Rasmussen K, Jeppesen HJ, Sabroe S. (1993c). Psychometric tests for assessment of brain function after solvent exposure. *Am J Ind Med.* 1993 Nov;24(5):553-65.
- Rasmussen K, Jeppesen HJ, Sabroe S. (1993d). Solvent-induced chronic toxic encephalopathy. *Am J Ind Med.* 1993 May;23(5):779-92.
- Ritz B. (1999). Cancer mortality among workers exposed to chemicals during uranium processing. *J Occup Environ Med.* 1999 Jul;41(7):556-66.
- RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu). (2001). Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels. Rapport 711701025. Bilthoven, Pays-Bas. 297p.
- Robbiano L, Mereto E, Migliazzi Morando A, Pastore P, Brambilla G. (1998) Increased frequency of micronucleated kidney cells in rats exposed to halogenated anaesthetics. *Mutat Res.* 1998 Feb 23;413(1):1-6.
- Robbiano L, Baroni D, Carrozzino R, Mereto E, Brambilla G. (2004). DNA damage and micronuclei induced in rat and human kidney cells by six chemicals carcinogenic to the rat kidney. *Toxicology* 204(2-3): 187-195.
- Rusyn I, Chiu WA, Lash LH, Kromhout H, Hansen J, Guyton KZ. (2014). Trichloroethylene: Mechanistic, epidemiologic and other supporting evidence of carcinogenic hazard. *Pharmacol Ther* 141(1): 55-68.
- Salvini M, Binaschi S, Riva M. (1971). Evaluation of the psychophysiological functions in humans exposed to trichloroethylene. *Br J Ind Med.* 1971 Jul;28(3):293-5.
- Santé Canada. (1993). Trichloroéthylène. Rapport d'évaluation. Liste des substances d'intérêt prioritaire. Ottawa : Santé Canada, 61 p.
- Santé Canada. (2005). Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : documentation à l'appui. Le Trichloroéthylène. Préparé par le comité fédéral provincial territorial sur l'eau potable. Ottawa : Santé Canada, 55 p.
- Sato A., Nakajima T. (1978). Differences following skin or inhalation exposure in the absorption and excretion kinetics of trichloroethylene and toluene. *Br J Ind Med.* 1978 Feb;35(1):43-9.
- Scott CS, Jinot J. (2011). Trichloroethylene and cancer: systematic and quantitative review of epidemiologic evidence for identifying hazards. *Int J Environ Res Public Health.* 2011 Nov;8(11):4238-72.
- Seiji K, Jin C, Watanabe T, Nakatsuka H, Ikeda M. (1990). Sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of workers exposed to benzene, trichloroethylene, or tetrachloroethylene, with reference to smoking habits. *Int Arch Occup Environ Health* 62(2): 171-176.
- Seldén A, Hultberg B, Ulander A, Ahlborg G Jr. (1993). Trichloroethylene exposure in vapour degreasing and the urinary excretion of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase. *Arch Toxicol.* 1993;67(3):224-6.
- Shen T, Zhu QX, Yang S, Wu CH, Zhang HF, Zhou CF, Zhang XJ. (2008) Trichloroethylene induced cutaneous irritation in BALB/c hairless mice: histopathological changes and oxidative damage. *Toxicology.* 2008 Jun 27;248(2-3):113-20.
- Stewart PA, Lee JS, Marano DE, Spirtas R, Forbes CD, Blair A. (1991). Retrospective cohort mortality study of workers at an aircraft maintenance facility. II. Exposures and their assessment. *Br J Ind Med.* 1991 Aug;48(8):531-7.
- Stewart RD, Hake CL, Peterson JE. (1974). Use of breath analysis to monitor trichloroethylene exposures. *Arch Environ Health.* 1974 Jul;29(1):6-13.

- Stewart RD, Dodd HC, Gay HH, Erley DS. (1970). Experimental human exposure to trichloroethylene. *Arch Environ Health*. 1970 Jan;20(1):64-71.
- Stott WT, Quast JF, Watanabe PG. (1982). The pharmacokinetics and macromolecular interactions of trichloroethylene in mice and rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 62(1): 137- 151.
- Sujatha TV, Hegde MJ. (1998). C-mitotic effects of trichloroethylene (TCE) on bone marrow cells of mice. *Mutat Res* 413(2):151-158.
- Tabrez S, Ahmad M. (2009). Toxicity, Biomarkers, Genotoxicity, and Carcinogenicity of Trichloroethylene and Its Metabolites: A Review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 27(3): 178-196.
- Tang X, Que B, Song X, Li S, Yang X, Wang H, Huang H, Kamijima M, Nakajima T, Lin Y, Li L. (2008). Characterization of liver injury associated with hypersensitive skin reactions induced by trichloroethylene in the guinea pig maximization test. *J Occup Health*. 2008;50(2):114-21.
- TERA (Toxicology Excellence for Risk Assessment). (2004). Report of the peer consultation of harmonized PBPK model for trichloroethylene. Cincinnati, Ohio. September 2004. 55 pages.
- US EPA. (2008). TRICHLOROETHYLENE (CAS Reg. No. 79-01-6). INTERIM ACUTE EXPOSURE GUIDELINE LEVELS (AEGLs) for NAS/COT Subcommittee for AEGLs. Washington, USA : US Environmental Protection Agency , 101 p. Disponible sur <https://www.epa.gov/aegl/trichloroethylene-results-aegl-program>
- US EPA. (2011). Toxicological review of Trichloroethylene (CAS No. 79-01-6) in support of summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS) - EPA/635/R-09/011A. Washington, USA : US Environmental Protection Agency, 1200 p.
- US EPA. (1998). Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, OPPTS 870.5395. In vivo Mammalian Bone Marrow Cytogenetic Tests - Micronucleus Assay. Office of Pesticide Programs, Environmental protection Agency, Washington DC.
- Vamvakas S, Brüning T, Thomasson B, Lammert M, Baumüller A, Bolt HM, Dekant W, Birner G, Henschler D, Ulm K. (1998). Renal cell cancer correlated with occupational exposure to trichloroethene. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1998;124(7):374-82.
- Varshney M, Chandra A, Jain R, Ahmad R, Bihari V, Chandran CK, Mudiam MKR., Patnaik S, Goel SK. (2015). Occupational health hazards of trichloroethylene amongworkers in relation to altered mRNA expression of cell cycleregulating genes (p53, p21, bax and bcl-2) and PPARA. *Toxicol Rep*. 15(2):748-757.
- Vermeulen R, Zhang L, Spierenburg A, Tang X, Bonventre JV, Reiss B, Shen M, Smith MT, Qiu C, Ge Y, Ji Z, Xiong J, He J, Hao Z, Liu S, Xie Y, Yue F, Guo W, Purdue M, Beane Freeman LE, Sabbisetti V, Li L, Huang H, Rothman N, Lan Q. (2012). Elevated urinary levels of kidney injury molecule-1 among Chinese factory workers exposed to trichloroethylene. *Carcinogenesis*. 2012 Aug;33(8):1538-41
- Vlaanderen J, Straif K, Pukkala E, Kauppinen T, Kyyrönen P, Martinsen JI, Kjaerheim K, Tryggvadottir L, Hansen J, Sparén P, Weiderpass E. (2013). Occupational exposure to trichloroethylene and perchloroethylene and the risk of lymphoma, liver, and kidney cancer in four Nordic countries. *Occup Environ Med*. 2013 Jun;70(6):393-401.
- Von Tungeln LS, Yi P, Bucci TJ, Samokyszyn VM, Chou MW, Kadlubar FF, Fu PP. (2002). Tumorigenicity of chloral hydrate, trichloroacetic acid, trichloroethanol, malondialdehyde, 4-hydroxy-2-nonenal, crotonaldehyde, and acrolein in the B6C3F(1) neonatal mouse. *Cancer Lett*. 2002 Nov 8;185(1):13-9.
- Vyskocil A, Leroux T, Truchon G, Lemay F, Gagnon F, Gendron M, Viau C. (2008). Ototoxicity of trichloroethylene in concentrations relevant for the working environment. *Hum Exp Toxicol*. 2008 Mar;27(3):195-200.

- Wang G, Cai P, Ansari GA, Khan MF. (2007). Oxidative and nitrosative stress in trichloroethene-mediated autoimmune response. *Toxicology*. 2007 Jan 18;229(3):186-93.
- Wartenberg D. (2007). Causal relationship between trichloroethylene exposure and non-Hodgkin's lymphoma. *Occup Environ Med*. 2007 May;64(5):352.
- Wartenberg D, Reyner D, Scott CS. (2000). Trichloroethylene and cancer: epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect*. 2000 May;108 Suppl 2:161-76.
- Wilmer JW, Spencer PJ, Ball N, Bus JS. (2014). Assessment of the genotoxicity of trichloroethylene in the in vivo micronucleus assay by inhalation exposure. *Mutagenesis* 29(3): 209-214.
- Winneke G. Acute behavioral effects of exposure to some organic solvents -psychophysiological aspects. *Acta Neurol Scand Suppl*. 1982;92:117-29.
- Xu X, Yang R, Wu N, Zhong P, Ke Y, Zhou L, Yuan J, Li G, Huang H, Wu B. (2009). Severe hypersensitivity dermatitis and liver dysfunction induced by occupational exposure to trichloroethylene. *Ind Health*. 2009 Apr;47(2):107-12.
- Xu H, Tanphaichitr N, Forkert PG, Anupriwan A, Weerachayanukul W, Vincent R, Leader A, Wade MG. (2004). Exposure to trichloroethylene and its metabolites causes impairment of sperm fertilizing ability in mice. *Toxicol Sci*. 2004 Dec;82(2):590-7.
- Yáñez Díaz S, Morán M, Unamuno P, Armijo M. (1992). Silica and trichloroethylene-induced progressive systemic sclerosis. *Dermatology*. 1992;184(2):98-102.
- Yauck JS, Malloy ME, Blair K, Simpson PM, McCarver DG. (2004). Proximity of residence to trichloroethylene-emitting sites and increased risk of offspring congenital heart defects among older women. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2004 Oct;70(10):808-14.
- Zhao Y, Krishnadasan A, Kennedy N, Morgenstern H, Ritz B. (2005). Estimated effects of solvents and mineral oils on cancer incidence and mortality in a cohort of aerospace workers. *Am J Ind Med*. 2005 Oct;48(4):249-58.

9.2 Normes

- NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

ANNEXES

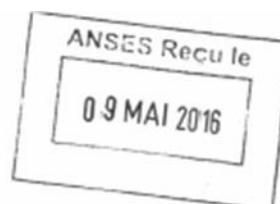
Annexe 1 : Lettre de saisine

2016 -SA- 0 1 1 6

2016 -SA- 0 1 1 7

2016 -SA- 0 1 1 8

2016 -SA- 0 1 1 9



MINISTÈRE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SANTÉ

Direction générale de la santé
Sous-direction de la prévention des risques
liés à l'environnement et à l'alimentation
Bureau de l'environnement extérieur et des produits chimiques
DGS/EA1 n° 56

Personne chargée du dossier :
Stéphanie LOYER
Tel : 01 40 56 76 06
Mél : stephanie.loyer@sante.gouv.fr

Paris, le 18 MAR 2016

Le Directeur général de la santé

à

Madame la Directrice générale
suppléante de l'Agence nationale de
sécurité sanitaire de l'alimentation, de
l'environnement et du travail

Objet : Saisine relative à la sélection ou à l'élaboration des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour le Trichloroéthylène (TCE), le Perchloroéthylène (PCE), l'Ammoniac et quatre Chloro-aniline.

Dans le cadre des évaluations de risques réalisées dans le traitement des dossiers relatifs aux Installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) ou à la gestion de sites et sols pollués, les ARS ou les bureaux d'étude interrogent régulièrement la DGS sur le choix des VTR de certaines substances. Ce choix s'effectue au regard de la note d'information N° DGS/EA1/DGPR/2014/307 du 31 octobre 2014 relative aux modalités de sélection des substances chimiques et de choix des valeurs toxicologiques de référence pour mener les évaluations des risques sanitaires dans le cadre des études d'impact et de la gestion des sites et sols pollués.

Dans cette note, l'Anses est désignée comme agence d'expertise pour le choix et la construction des VTR. Ainsi l'Anses peut être saisie pour la construction de VTR en cas d'absence de VTR pour certaines substances, comme par exemple pour les chloroanilines, en cas de remise en question des VTR existantes par l'agence, comme par exemple pour le TCE et le PCE, ou encore lorsque le choix entre plusieurs VTR existantes pose des difficultés. En effet, dans la gestion de certains dossiers, le choix de la VTR peut s'avérer crucial pour l'évaluation des risques, et faire basculer le risque d'acceptable à inacceptable.

Cette situation s'est présentée à deux reprises dans le cadre de dossiers de demande d'autorisation d'exploiter d'ICPE rejetant de l'ammoniac.

Ainsi, au regard des enjeux d'évaluation et de gestion des risques liés à la sélection des VTR, je vous demande de bien vouloir procéder successivement :

- à la réalisation d'une revue critique de la littérature afin de sélectionner, parmi les VTR existantes pour les substances listées dans le tableau ci-dessous, celle dont vous validez la construction ;
- à la construction de VTR aiguës, subchroniques et chroniques, à seuil et sans seuil, par inhalation pour les substances pour lesquelles l'étape précédente n'a pas conduit à la sélection d'une VTR déjà existante pour cette voie d'exposition.

Ces deux étapes devront être réalisées sur les substances suivantes, par ordre de priorité :

Priorité	Substances	Numéro CAS
1	TCE	79-01-6
2	PCE	127-18-4
3	Ammoniac	7664-41-7
4	4-chloroaniline	106-47-8
5	3- chloroaniline	108-42-9
6	2-chloroaniline	95-51-2
7	2.5-dichloroaniline	95-82-9

Concernant les quatre chloroaniline, lors de la revue bibliographique, vous analyserez également la pertinence de sélectionner une substance traceuse du risque. Selon les résultats de cette analyse, vous procéderez à la sélection ou la construction d'une VTR pour cette substance traceuse ou d'autant de VTR que nécessaire pour une analyse complète du risque.

Je vous remercie de bien vouloir me transmettre, dans les meilleurs délais, votre proposition de contrat d'expertise comprenant notamment les modalités de traitement et de restitution des travaux, dont les résultats pour le TCE sont attendus pour septembre 2016 au plus tard et le rendu final pour mars 2017 au plus tard.

Le Directeur Général de la Santé,


Professeur Benoît VALLET

Copies : DGPR, InVS

Annexe 2 : Recherche bibliographique complémentaire sur la période 2014 - 2018 – mots clés

Date de la recherche : 06/02/2018

Trichloroethylene

Requête SCOPUS

(TITLE-ABS-KEY (trichloroethylene)
AND TITLE-ABS-KEY (toxicity))
AND PUBYEAR > 2013
AND (LIMIT-TO (LANGUAGE , "English"))

Requête PUBMED

(trichloroethylene[MeSH Major Topic] AND toxicity AND (inhalation OR respiratory) + Publication date from 2014/01/01.
(trichloroethylene[MeSH Major Topic] AND toxicity + Publication date from 2014/01/01 + English et French

Annexe 3 : Limites et points forts des études épidémiologiques observant un lien entre l'exposition au TCE et le cancer rénal (NTP, 2015 ; US EPA, 2011 ; CIRC, 2014)

Références	Retenue comme étude clé	Commentaires
Etudes de cohorte		
Zhao <i>et al.</i> , 2005		<p><u>Exposition</u> : « mesure » obtenue en construisant une matrice emploi x exposition à partir de documents d'entreprise (manuels décrivant les postes, histoire professionnelle des salariés...) et en interviewant des salariés.</p> <p><u>Covariables</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dans tous les modèles, SSE (fixe, si changement dans le temps : SSE du poste occupé le + longtemps), temps écoulé depuis l'embauche dans l'entreprise, âge (ces deux variables dépendant du temps)– - Dans une analyse supplémentaire, ajustement supplémentaire sur la co-exposition aux autres produits chimiques cancérigènes (HAP, huiles minérales, benzène) <p><u>Points forts</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - analyse multivariée évaluant les relations exposition-réponse en tenant compte des co-expositions (NTP, 2015) - suivi de la mortalité sur plus de 50 ans et de l'incidence des cancers depuis 1988 (CIRC, 2014), - évaluation détaillée de l'exposition qui permet le développement d'une matrice emploi-exposition (US EPA, 2011), - utilisation de témoins internes qui, en général, minimisent les effets potentiels des facteurs confondants dus au tabagisme et au statut socioéconomique puisque les sujets exposés et les sujets de référence proviennent de la même population cible (US EPA, 2011). - Huiles minérales telles que fluides de coupe et hydrazine, utilisées communément dans certains emplois avec des expositions potentielles au TCE (ex machinistes, travailleurs du métal et mécaniciens de banc d'essai) incluses comme covariables dans les analyses statistiques (US EPA, 2011) - Biais de sélection peu probable (NTP, 2015) <p><u>Limites</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sous- estimation des cas de cancers incidents évaluée à 11% - Faible nombre de cas pour certains cancers, ce qui limite les analyses - évaluation de l'exposition grâce au développement d'une matrice emploi-exposition (US EPA, 2011), - L'information sur les facteurs de confusion possibles dus à l'IMC (obésité) et au diabète fait défaut. Cependant, les incertitudes sont probablement minimales car la population active est généralement en bonne santé et a accès aux soins médicaux (US EPA, 2011). <p><u>Preuves d'une association positive (NTP, 2015)</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estimations statistiquement significatives pour l'incidence du cancer du rein et de la vessie, qui disparaissent après ajustement sur les autres cancérigènes ;

		<ul style="list-style-type: none"> - preuve d'une relation dose-réponse ; - peu susceptible d'être expliquée par la confusion due aux co-expositions.
Etudes cas-témoins		
Moore <i>et al.</i> , 2010		<p><u>Exposition</u> : L'intensité et la prévalence de l'exposition professionnelle ont été plus élevées en Europe centrale et de l'ouest que dans d'autres régions industrielles</p> <p><u>Covariables</u> : âge, sexe, centre hospitalier + résidence, tabagisme, IMC et antécédents d'hypertension non pris en compte dans les modèles finaux car pas d'incidence sur l'estimation du risque.</p> <p><u>Points forts</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - évaluation détaillée de l'exposition qui permet le développement d'une matrice emploi-exposition et la construction de plusieurs indices d'exposition mais inconvénients de ce type d'évaluation (pas de mesures) Huiles minérales telles que fluides de coupe et hydrazine, utilisées communément dans certains emplois avec des expositions potentielles au TCE (ex machinistes, travailleurs du métal et mécaniciens de banc d'essai) évaluées comme une seule exposition pour les cas et les témoins (US EPA, 2011) - Construction d'un indice de confiance pour l'expositon. - Grand nombre de cas et de témoins dans l'ensemble et les sous-analyses. <p><u>Limites</u> : Potentiel de biais de sélection car les témoins sont recrutés parmi les patients hospitaliers ou traités en ambulatoire atteints de pathologies diverses</p> <p><u>Preuves d'une association positive</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estimations de l'effet statistiquement significative et modérément élevé ; - preuve d'une relation dose-réponse ; - peu susceptible d'être expliquée par des biais ou des facteurs de confusion.
Charbotel <i>et al.</i> , 2006, 2007, 2009 ; Fevotte <i>et al.</i> , 2006	Retenue par l'US EPA (2011)	<p><u>Exposition</u> : exposition de forte intensité et forte prévalence ; industrie du décolletage ; Estimation de l'exposition au TCE pour des emplois fortement exposés : 300-600 ppm (matrice tâches x exposition au TCE)</p> <p><u>Covariables</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - modèle 1 : sexe, âge (par construction), tabagisme, IMC - modèle 2 : sexe, âge (par construction), tabagisme, IMC, huiles de coupe, huiles de pétrole et/ou autres huiles minérales. - Aucune différence significative entre les cas et les témoins pour un certain nombre de facteurs liés aux antécédents médicaux. <p><u>Points forts</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - évaluation détaillée de l'exposition et mesures atmosphériques et biologiques pour le TCE qui permettent le développement d'une matrice tâche x exposition au TCE et d'une matrice emploi x exposition pour les autres expositions - Construction d'un indice de confiance pour l'expositon

		<ul style="list-style-type: none">-- prises en compte des co-expositions <p><u>Limites</u> : faible nombre de cas exposés et de témoins dans les sous-groupes d'analyse</p> <p><u>Preuves d'une association positive</u> :</p> <ul style="list-style-type: none">- Estimations de l'effet statistiquement significatives et modérément élevées ;- preuve d'une relation dose-réponse ;- peu susceptible d'être expliquée par les facteurs de confusion.
--	--	--

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)