

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR
chroniques par voies
orale et respiratoire pour
la 4-chloroaniline,
la 3-chloroaniline,
la 2-chloroaniline,
et la 2,5-dichloroaniline

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Juillet 2018

Édition scientifique

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chroniques par voies orale et respiratoire pour la 4-chloroaniline, la 3-chloroaniline, la 2-chloroaniline, et la 2,5-dichloroaniline

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Juillet 2018

Édition scientifique

Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 30 juillet 2018

AVIS

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

Relatif à l'élaboration de VTR chroniques par voies orale et respiratoire pour la 4-chloroaniline (CAS n°106-47-8), la 3-chloroaniline (CAS N° 108-42-9), la 2-chloroaniline (CAS n° 95-51-2), et la 2,5-dichloroaniline (CAS n°95-82-9)

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. 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 d'information susmentionnée, 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) notamment pour les 4 chloroaniline suivantes : la 4-chloroaniline (CAS n°106-47-8), la 3-chloroaniline (CAS N° 108-42-9), la 2-chloroaniline (CAS n° 95-51-2), et la 2,5-dichloroaniline (CAS n°95-82-9). La saisine demandait à l'agence d'analyser la pertinence de sélectionner une substance traceuse de risque. Au vu des

données disponibles pour ces substances, le CES a décidé de proposer des VTR non seulement par voie respiratoire mais aussi par voie orale.

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 à seuil 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 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 ;
- appliquer des facteurs d'incertitude à cette dose critique de manière à dériver une VTR applicable à l'ensemble de la population concernée.

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

Une valeur toxicologique indicative (VTi) pourra être proposée lorsque les conditions nécessaires à l'élaboration d'une VTR ne sont pas remplies et qu'une évaluation quantitative de risque sanitaire (EQRS) est nécessaire dans un contexte d'exposition donné :

1. en cas d'**insuffisance des données** disponibles sur la substance pour caractériser le danger de la substance ou de **doute sur le caractère néfaste de l'effet**. Dans ce cas, une veille bibliographique sera menée par l'Anses sur ces substances en vue de remplacer les valeurs toxicologiques indicatives par des VTR si de nouvelles données le permettent ;
2. en cas de **contraintes de temps et/ou de ressources**. Dans ce cas, la valeur toxicologique indicative serait élaborée au mieux dans le temps imparti, puis un travail complémentaire sera le cas échéant réalisé afin de proposer une VTR.

Une VTi est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi un niveau de confiance faible.

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 adoptés par le CES « Valeurs sanitaires de référence » réuni le 23 et 24 novembre 2017.

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.

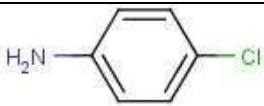
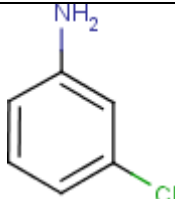
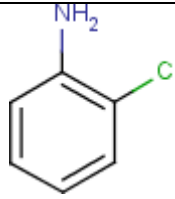
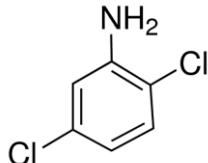
Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

■ Identification des substances (isomères de la chloroaniline et 2,5-dichloroaniline)

L'identification de la 4-chloroaniline, la 3-chloroaniline, la 2-chloroaniline, et la 2,5-dichloroaniline est présentée dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Identification des isomères de la chloroaniline

Substance chimique	4-chloroaniline (para-chloroaniline)	3-chloroaniline (méta-chloroaniline)	2-chloroaniline (ortho-chloroaniline)	2,5-dichloroaniline
Numéro CAS	106-47-8	108-42-9	95-51-2	95-82-9
Formule moléculaire	C ₆ H ₆ ClN	C ₆ H ₆ ClN	ClC ₆ H ₄ NH ₂	C ₆ H ₅ Cl ₂ N
Structure moléculaire				

■ Synthèse des données toxicologiques

- **Toxicité aiguë** : Plusieurs cas d'intoxication aiguë humaine par la 4-chloroaniline sont rapportés. Ils font suite à une exposition par ingestion, inhalation et/ou contact cutané (IPCS, 2003 ; Pizon *et al.*, 2009). Tous ont entraîné une méthémoglobinémie. Un de ces cas d'intoxication aiguë a été mortel.

- **Toxicité répétée** : Les études aiguës, subchroniques et chroniques montrent que les isomères ortho, méta et para (2, 3 et 4-chloroaniline) sont tous les trois hématotoxiques et que leurs effets sont identiques chez le rat et la souris, la 4-chloroaniline étant l'isomère le plus documenté des trois.

Aucune étude n'a été identifiée relative à la 2,5-dichloroaniline.

- **Génotoxicité** : Selon la littérature, ni la 3-chloroaniline, ni la 2-chloroaniline ne présentent d'activité mutagène. Les études portant sur la 4-chloroaniline concluent que les preuves de la génotoxicité de la 4-chloroaniline sont faibles.

- **Cancérogénicité** : Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a classé la 4-chloroaniline en catégorie « 2B » (peut être cancérogène pour l'Homme) (CIRC, 1993) sur la base de preuves insuffisantes chez l'Homme et suffisantes chez l'animal.

- **Effets sur la reproduction et le développement** : Selon la littérature, les 2, 3 et 4-chloroaniline n'entraînent pas d'effet sur la reproduction et le développement.

■ Proposition de VTR

1. Choix de l'effet critique pour la voie orale

Les isomères de la chloroaniline sont hématotoxiques. Plus particulièrement, a été montrée, chez le rat et la souris, une augmentation dose-dépendante de la méthémoglobinémie et un effet hémolysant, entraînant la formation de dépôts d'hémosidérine dans le foie, la rate et les reins. L'effet méthémoglobinisant est l'effet critique retenu : les études expérimentales disponibles indiquent que c'est celui qui apparaît aux doses testées les plus faibles, quelle que soit la durée d'exposition aiguë, subchronique, et chronique.

2. Recueil et analyse des VTR existantes

Aucune VTR par inhalation n'est disponible parmi les bases de données des organismes reconnus et listés dans le guide méthodologique (Anses, 2017).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'US EPA ont proposé des VTR chroniques par voie orale pour la 4-chloroaniline. L'OMS propose une valeur de $2 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j basée sur l'hématotoxicité chez le rat (augmentation de la méthémoglobinémie) avec un LOAEL de 2 mg/kg/j. L'US EPA propose une valeur de $4 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j basée sur l'apparition des lésions non néoplasiques de la rate chez le rat avec un LOAEL¹ de 12,5 mg/kg/j.

Le CES n'a pas souhaité retenir les VTR par voie orale de l'OMS et de l'US EPA car, même si les effets sur la rate et sur l'hématotoxicité sont considérés comme des effets pertinents, leur construction ne suit pas la méthodologie de l'Anses (construction de benchmark dose, ajustement allométrique).

Le CES n'a pas souhaité retenir la VTR sans seuil de l'Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA), car un mécanisme d'action à seuil de dose a été retenu par les experts.

Par conséquent, le CES a proposé de construire des VTR aiguë, subchronique et chroniques (à seuil et/ou sans seuil) par voie orale et respiratoire.

3. VTR aigus par voies orale et respiratoire

- VTR aigus pour la 2- et la 3-chloroaniline
 - Choix de l'étude clé et de la dose critique

Aucune étude expérimentale d'exposition par voie respiratoire n'est disponible dans la littérature.

Le NTP² (1998) a réalisé des études comparatives de 3, 23 et 93 jours (soit jusqu'à 13 semaines) sur la toxicité de la 2-chloroaniline et de la 3-chloroaniline, chez le rat Fisher (10 mâles et 10 femelles) et chez la souris B6C3F1 (10 mâles et 10 femelles) à des doses de 0, 10, 20, 40, 80 ou 160 mg/kg pc/j administrées par gavage. Le NTP rapporte pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline une augmentation significative de la méthémoglobinémie après 3 jours d'exposition.

Dans le cas de la 2-chloroaniline, le CES a choisi la dose critique la plus faible (déterminée chez le rat femelle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill). Les valeurs des BMD et BMDL sont respectivement de 11 et de 8,97 mg/kg pc/j basées sur une augmentation de 5% de méthémoglobinémie par rapport au groupe non exposé.

¹ Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)

² National Toxicology Program

Dans le cas de la 3-chloroaniline, le CES a choisi la dose critique la plus faible (déterminée chez le rat femelle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill). Les valeurs des BMD et BMDL sont respectivement de 1,6 et 1,37 mg/kg pc/j basées sur une augmentation de 5% de méthémoglobinémie par rapport au groupe non exposé.

▪ **Ajustement allométrique**

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé. Il a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante³ :

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

Le poids moyen des rats (femelles) correspondant est de 124 g dans l'étude du NTP (1998) portant sur la 2-chloroaniline et sur la 3-chloroaniline. Le poids moyen de l'Homme utilisé pour le calcul est 70 kg.

Soit une dose critique chez l'Homme :

- pour la 2-chloroaniline : **BMD_{5%}L_{90%} HED = 1,83 mg/kg pc/j**
- pour la 3-chloroaniline : **BMD_{5%}L_{90%} HED = 0,28 mg/kg pc/j**

▪ **Pour le calcul de la VTR par voie respiratoire, une extrapolation voie à voie a été réalisée.**

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale⁴ et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique (**BMC_{5%}L_{90%} HEC**) en utilisant un volume d'air respiré sur 24 h de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012), soit 6,4 mg.m⁻³ pour la 2-chloroaniline et 0,98 mg.m⁻³ pour la 3-chloroaniline.

▪ **Choix des facteurs d'incertitude**

Le calcul des VTR des isomères 2 et 3 de la chloroaniline a été effectué en appliquant les 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. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS/IPCS⁵ (OMS/IPCS, 2005) et sur la base du guide méthodologique 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 a été retenue par les experts.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction des VTR aiguës.

▪ **Niveau de confiance pour les VTR aiguës pour la 2 et 3-chloroaniline**
• pour la voie orale

Un niveau de confiance global **moyen/fort** a été attribué aux VTR aiguës de la 2 et 3-chloroaniline en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (moyen), le choix de

³ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

⁴ Les données de toxicocinétiques sur la 4-chloroaniline ont montré que ce composé était totalement absorbé par la voie orale.

⁵ International programme on chemical safety

l'effet critique et le mode d'action (fort), le choix de l'étude clé (moyen) et le choix de la dose critique (fort).

- **pour la voie respiratoire**

Un niveau de confiance global **moyen** a été attribué aux VTR aiguës de la 2 et 3- chloroaniline en se basant sur les 4 critères suivants ; la nature et la qualité des données (faible⁶), le choix de l'effet critique et le mode d'action (fort), le choix de l'étude clé (fort) et le choix de la dose critique (fort).

- **VR aiguës pour la 4-chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline**

Concernant la 4-chloroaniline, les données concernant les effets liés aux expositions aiguës ne sont pas détaillées dans l'étude du NTP (1989), le CES a choisi la dose critique la plus faible parmi les valeurs déterminées pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline.

Concernant la 2,5-chloroaniline, il n'existe aucune étude concernant les effets liés aux expositions aiguës, le CES a choisi la dose critique la plus faible parmi les valeurs déterminées pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline.

En l'absence de données concernant les effets sur les expositions aiguës de la 4-chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline, le CES a choisi la dose critique la plus faible parmi les valeurs déterminées pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline, soit la VTR de la 3-chloroaniline qui est de 11,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 39,2 µg/m³ pour la VTR respiratoire. Ces valeurs correspondent à des VTi.

Une valeur toxicologique indicative (VTi) est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit toutefois d'une valeur indicative moins robuste que la VTR et présente de ce fait un **niveau de confiance faible**.

Au final, les VTR et VTi aiguës par voie orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline sont résumées dans le tableau 2.

⁶ L'analyse bibliographique a révélé qu'il n'existait que peu ou pas d'études de la toxicité subaiguë de la 2-chloroaniline et 3-chloroaniline pour la voie respiratoire ce qui a conduit à réaliser une extrapolation voie à voie.

Tableau 2 : VTR aiguës par voies orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline

Substance	Effet critique (référence)	Dose critique	UF	VTR / VTi
VOIE ORALE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 8,97 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 1,83 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 73 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,37 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,28 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 11,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 11,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 11,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : faible
VOIE RESPIRATOIRE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 8,97 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1,83 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 6,4 mg/m ³	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 256 µg.m ⁻³
				Niveau de confiance : Faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 1,37 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,28 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,98 mg.m ⁻³	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 39,2 µg.m ⁻³
				Niveau de confiance : Faible
4-chloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 39,2 µg.m ⁻³
				Niveau de confiance : faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 39,2 µg.m ⁻³
				Niveau de confiance : faible

4. VTR subchroniques par voies orale et respiratoire

○ **Choix de l'étude clé et de la dose critique pour la voie orale**

Aucune étude par voie respiratoire n'est disponible. Par voie orale, les études du NTP (1998 et 1989) concernant les isomères de la chloroaniline sont de qualité suffisante pour être considérées comme études clés.

Le NTP (1998) rapporte pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline une augmentation significative de la méthémoglobinémie après 13 semaines d'exposition chez le rat Fisher (10 mâles et 10 femelles) et chez la souris B6C3F1 (10 mâles et 10 femelles) à des doses de 0, 10, 20, 40, 80 ou 160 mg/kg pc/j administrées par gavage.

L'étude du NTP (1989) rapporte une augmentation de la méthémoglobinémie chez les rats et/ou les souris qui ont reçu de la 4-chloroaniline, pendant 3 mois à des doses de respectivement 0, 5, 10, 20, 40 et 80 mg/kg pc/j et de 0, 7,5, 15, 30, 60 et 120 mg/kg pc/j.

Dans le cas de la 2-chloroaniline, le CES a choisi la dose critique la plus faible (déterminée chez le rat mâle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill). Les valeurs des BMD et BMDL sont respectivement de 1,9 et de 1,5 mg/kg/j, basées sur une augmentation de 5% de méthémoglobinémie par rapport au groupe non exposé.

Dans le cas de la 3-chloroaniline, le CES a choisi la dose critique la plus faible (déterminée chez le rat mâle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill). Les valeurs des BMD et BMDL sont respectivement de 0,65 et de 0,56 mg/kg/j basées sur une augmentation de 5% de méthémoglobinémie par rapport au groupe non exposé.

Dans le cas de la 4-chloroaniline, le CES n'a pas pu construire de BMD robuste. Selon les résultats présentés par le NTP, il y a une augmentation statistiquement significative de la méthémoglobinémie chez le rat mâle et femelle à la première dose testée, soit 5 mg/kg/j. Le CES a considéré cette valeur comme un LOAEL.

Dans le cas de la 2,5-chloroaniline, il n'existe aucune étude concernant les effets après une exposition subchronique. Le CES a choisi la dose critique la plus faible parmi les valeurs déterminées pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline.

○ **Ajustement allométrique**

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante⁷ :

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

Le poids moyen des rats (femelles) correspondant au poids des femelles à 13 semaines est de 326 g, 321 g et de 334 g dans les études portant respectivement sur la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline. Le poids moyen de l'Homme utilisé pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique :

- pour la 2-chloroaniline : $\text{BMD}_{5\%L_{90\% \text{ HED}}} = 0,39 \text{ mg/kg pc/j}$
- pour la 3-chloroaniline : $\text{BMD}_{5\%L_{90\% \text{ HED}}} = 0,15 \text{ mg/kg pc/j}$
- pour la 4-chloroaniline : $\text{LOAEL}_{\text{HED}} = 1,31 \text{ mg/kg pc/j}$

⁷ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

- **Pour le calcul de la VTR par voie respiratoire, une extrapolation voie à voie a été réalisée.**

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique (**BMC_{5%}L_{90%} HEC**) en utilisant un volume d'air respiré sur 24 h de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012), soit 1,365 mg.m⁻³ pour la 2-chloroaniline, 0,525 mg.m⁻³ pour la 3-chloroaniline et 4,585 mg.m⁻³ pour la 4-chloroaniline. La concentration critique chez l'Homme est donc de 1,365 mg.m⁻³ pour la 2-chloroaniline, de 0,525 mg.m⁻³ pour la 3-chloroaniline et de 4,585 mg.m⁻³ pour la 4-chloroaniline.

- **Choix des facteurs d'incertitude**

Le calcul des VTR des isomères 2 et 3 de la chloroaniline a été effectué en appliquant les 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 de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS (IPCS, 2005) et sur la base du guide méthodologique 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 a été retenue par les experts.

Concernant la 4-chloroaniline, le CES a choisi d'appliquer un facteur d'incertitude (par défaut de 10) lié à l'usage d'un LOAEL.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction des VTR subchroniques pour la 2 et la 3-chloroaniline et un facteur d'incertitude global de 250 est utilisé pour la construction de la VTR subchroniques de la 4-chloroaniline.

Concernant la 2,5-dichloroaniline, en l'absence de données concernant les effets sur les expositions subchronique, le CES a choisi la valeur la plus faible parmi les valeurs déterminées pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline, c'est-à-dire la VTR de la 4-chloroaniline qui est de 5,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 18,3 µg/m³ pour la VTR respiratoire. Ces valeurs correspondent à des VTi.

- **Niveau de confiance pour les VTR de la 2, 3 et 4-chloroaniline**
 - **pour la voie orale**

Un niveau de confiance global **moyen/fort** a été attribué aux VTR subchroniques de la 2, 3 et 4-chloroaniline en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (moyen), 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 pour la 2 et la 3-chloroaniline, moyen pour la 4-chloroaniline).

- **pour la voie respiratoire**

Un niveau de confiance global **moyen** a été attribué aux VTR subchroniques de la 2, 3-chloroaniline et faible pour la 4-chloroaniline en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (faible), le choix de l'effet critique et le mode d'action (fort), le choix de l'étude clé (fort) et le choix de la dose critique (fort pour la 2 et la 3-chloroaniline, faible pour la 4-chloroaniline).

○ **Niveau de confiance pour la VTi de la 2,5-dichloraniline**

Une VTi est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit toutefois d'une valeur indicative moins robuste que la VTR et présente de ce fait un **niveau de confiance faible**.

Les VTR et VTi subchroniques par voie orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3 : VTR subchroniques par voies orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline

Substance	Effet critique	Dose critique	UF	VTR /VTi
VOIE ORALE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	25	VTR = 15,6 µg/kg pc/j
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	25	VTR = 6 µg/kg pc/j
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	Augmentation de la méthémoglobininémie chez les rats mâle et femelle F344	LOAEL = 5 mg/kg/j	250 UF _L =10	VTR = 5,2 µg/kg pc/j
	NTP (1989) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL HED = 1,31 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
2,5-chloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 5,2 µg/kg pc/j Niveau de confiance : faible
VOIE RESPIRATOIRE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344	BMC _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	25	VTR = 54,6 µg.m ⁻³
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,39 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1,365 mg.m ⁻³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344	BMC _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	25	VTR = 21 µg.m ⁻³
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,15 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,525 mg/m ³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	Augmentation de la méthémoglobininémie chez les rats mâle et femelle F344	LOAEL = 5 mg/kg/j	250 UF _L =10	VTR = 18,3 µg.m ⁻³
	NTP (1989) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL HED = 1,31 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> LOAEC HEC = 4,585 mg/m ³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : Faible
2,5-chloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 18,3 µg.m ⁻³ Niveau de confiance : faible

5. VTR chroniques par voies orale et respiratoire

- **VTR chroniques pour la 4-chloroaniline**
 - **Choix de l'étude clé et de la dose critique pour la voie orale**

Dans l'étude de cancérogénicité du chlorhydrate de 4-chloroaniline (NTP, 1989), des groupes de 50 rats et souris mâles et femelles ont reçu du chlorhydrate de 4-chloroaniline par gavage pendant cinq jours par semaine pendant 103 semaines. Les doses administrées aux rats étaient de 0, 2, 6 ou 18 mg/kg/j. Les doses administrées aux souris étaient de 0, 3, 10 ou 30 mg/kg/j. Les résultats en termes d'augmentation de la méthémoglobinémie chez la souris n'ont pas été examinés pour la durée d'exposition supérieure à 13 semaines.

Le CES a choisi la dose critique (déterminée chez le rat femelle) la plus basse et issue du modèle qui s'ajustait le mieux aux données expérimentales (le modèle exponentiel). Les valeurs des BMD et BMDL sont respectivement de 0,16 et 0,11 mg/kg/j basées sur une augmentation de 5% de méthémoglobinémie par rapport au groupe non exposé.

- **Ajustement allométrique**

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante⁸ :

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

Le poids moyen des rats (femelle) correspondant au poids des femelles à 13 semaines est de 292 g dans l'étude sur la 4-chloroaniline. Le poids moyen de l'Homme utilisé pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique-pour la 4-chloroaniline : $\text{BMD}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HED}} = 0,03 \text{ mg/kg pc/j}$

- **Pour le calcul de la VTR respiratoire, une extrapolation voie à voie a été réalisée.**

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale² et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique (**$\text{BMC}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HEC}}$**) en utilisant un volume d'air respiré sur 24 h de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012). La concentration critique chez l'Homme est donc de 0,105 mg.m⁻³ pour la 4-chloroaniline, de 1,365 mg.m⁻³ pour le 2-chloroaniline et de 0,525 mg.m⁻³ pour la 3-chloroaniline.

- **Choix des facteurs d'incertitude**

Le calcul des VTR a été effectué en appliquant les 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 de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS (IPCS, 2005) et sur la base du guide méthodologique de l'Anses (Anses, 2017).

⁸ Cette équation est issue des recommandations de l'US EPA (US EPA, 2006).

- Variabilité interindividuelle (**UF_H**) : **10**. Aucune donnée scientifique permettant de réduire la valeur par défaut n'étant disponible, la valeur de 10 a été retenue par les experts.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction de la VTR chroniques pour la 4-chloroaniline.

En l'absence d'étude de toxicité subchronique et chronique pour la **2,5-dichloroaniline**, le CES a **décidé de lui attribuer la valeur de la VTR la plus protectrice calculée pour les trois autres isomères**, c'est-à-dire la VTR de la 4-chloroaniline qui est de 1,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 4,2 µg/m³ pour la VTR respiratoire. Ces valeurs correspondent à des VTi.

- **Niveau de confiance pour la VTR chronique de la 4-chloroaniline**
 - **pour la voie orale**

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 (moyen), 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).

- **pour la voie respiratoire**

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

- **VTR chroniques pour la 2- et la 3-chloroaniline**

Il n'existe pas d'études de toxicité chronique. Le CES a choisi de construire des VTR chroniques à partir des BMDL modélisées à partir des études subchroniques et ajustées chez l'Homme, soit 0,39 mg/kg/j pour la 2-chloroaniline et 0,15 mg/kg/j pour la 3-chloroaniline. Le calcul de la VTR 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 de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).
- Variabilité interindividuelle (**UF_H**) : **10**. Aucune donnée scientifique n'étant disponible pour permettre de réduire la valeur par défaut, la valeur de 10 est utilisée.
- Passage d'une durée d'exposition subchronique à chronique (**UFs**) : **3**. Le CES a choisi de construire des VTR chroniques à partir des études subchroniques pour ces deux composés en appliquant un UFs de 3 pour le passage d'une durée d'exposition subchronique à chronique.

- **Niveau de confiance pour les VTR chroniques de la 2, et 3-chloroaniline**
 - **pour la voie orale**

Un niveau de confiance global moyen/faible a été attribué à ces VTR par voie orale en se basant sur les 4 critères suivants : la nature et la qualité des données (faible), 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).

- **pour la voie respiratoire**

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

○ **VR chroniques pour la 2,5-dichloroaniline**

En l'absence d'étude de toxicité subchronique et chronique pour la **2,5-dichloroaniline**, le **CES a décidé de lui attribuer la valeur de la VTR la plus protectrice calculée pour les trois autres isomères**, c'est-à-dire la VTR de la 4-chloroaniline qui est de 1,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 4,2 µg/m³ pour la VTR respiratoire. Ces valeurs correspondent à des VTi.

Une VTi est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit toutefois d'une valeur indicative moins robuste que la VTR et présente de ce fait un **niveau de confiance faible**.

Les VTR et VTi chroniques par voie orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline sont présentées dans le tableau 4.

Tableau 4 : VTR chroniques par voies orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline

Substance	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
VOIE ORALE				
4-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 104 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,11 mg/kg/j	25	VTR = 1,2 µg/kg pc/j
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,03 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : Moyen/fort
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	75	VTR = 5,2 µg/kg pc/j
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance : Moyen/faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	75	VTR = 2 µg/kg pc/j
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance : Faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 1,2 µg/kg pc/j Niveau de confiance : Faible
VOIE RESPIRATOIRE				
4-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 104 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 0,11 mg/kg/j	25	VTR = 4,2 µg.m⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,03 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,105 mg/m ³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : Moyen/faible
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	75	VTR = 18,2 µg/m³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,39 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1,365 mg.m ⁻³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance : Faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	75	VTR = 7 µg.m⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,15 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,525 mg/m ³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance : Faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 4,2 µg.m⁻³ Niveau de confiance : Faible

Au final, **des VTR et VTi aiguës, subchroniques et chroniques par voies orale et respiratoire ont été construites pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline, 4-chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline**, basées sur l'augmentation de la méthémoglobinémie (tableaux 2 à 4). Des VTR chroniques construites sur les effets tumorigènes de la 4-chloroaniline auraient conduit à des valeurs plus élevées (donc moins protectrices) que celles construites sur l'augmentation de la méthémoglobinémie.

En l'absence d'études de toxicité aiguë pour la **4-chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline, le CES a décidé de leur attribuer la valeur de la VTR la plus protectrice, à savoir celle de la 3-chloroaniline (considérée toutefois comme des VTi).**

En l'absence d'étude de toxicité subchronique et chronique pour la **2,5-dichloroaniline, le CES a décidé de lui attribuer la valeur de la VTR la plus protectrice calculée pour les trois autres isomères (considérée comme des VTi).**

■ Conclusion

Le CES a élaboré des VTR pour les voies orale et respiratoire pour des durées d'application aiguës, subchroniques et chroniques pour les 4 isomères de la chloroaniline, et considère qu'il n'est pas pertinent de sélectionner une substance traceuse du risque parmi les 4 isomères de la chloroaniline.

Le CES recommande d'appliquer les valeurs suivantes (tableaux 5 et 6), à savoir de retenir la VTR de la 3-chloroaniline pour la 4-chloroaniline (toxicité similaire) et la 2,5-dichloroaniline (absence de donnée).

Tableau 5 : Valeurs de référence pour la voie orale

Substances	N° CAS	VTR pour la voie orale en $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ ^(a)		
		aiguë	subchronique	chronique
2-chloroaniline	95-51-2	73	16	5
3-chloroaniline	108-42-9	11	5	1
4-chloroaniline	106-47-8	11 ^(b)	5	1
2,5-chloroaniline	95-82-9	11 ^(b)	5 ^(b)	1 ^(b)

(a) Ces valeurs sont applicables à chacune des substances prises individuellement

(b) Cette valeur correspond à une VTi

Tableau 6 : Valeurs de référence pour la voie respiratoire

Substances	N° CAS	VTR pour la voie respiratoire en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ ^(a)		
		aiguë	subchronique	chronique
2-chloroaniline	95-51-2	256	55	18
3-chloroaniline	108-42-9	39	18	4
4-chloroaniline	106-47-8	39 ^(b)	18	4
2,5-chloroaniline	95-82-9	39 ^(b)	18 ^(b)	4 ^(b)

(c) Ces valeurs sont applicables à chacune des substances prises individuellement

(d) Cette valeur correspond à une VTi

En cas d'exposition à un mélange des isomères de la chloroaniline, le CES recommande de respecter à défaut le principe d'additivité lié à un mélange (considérant que les isomères de chloroaniline provoquent les mêmes effets sur les mêmes tissus) (SCHER, 2012).

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 l'élaboration de valeurs toxicologiques de référence par voie orale et respiratoire pour les isomères de la chloroaniline.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

Valeur toxicologique de référence, VTR, chloroaniline, oral, inhalation, respiratoire, aiguë, subchronique, chronique

KEY WORDS

Toxicological reference value, TRV, chloroaniline, oral, inhalation, respiratory effects, acute, subchronic, chronic

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Elaboration de VTR chronique par voie orale et respiratoire pour la 4-chloroaniline (CAS n°106-47-8), la 3-chloroaniline (CAS n° 108-42-9), la 2-chloroaniline (CAS n° 95-51-2), et la 2,5-dichloroaniline (CAS n°95-82-9)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »
Saisine « n°2016-SA-0119 »

RAPPORT d'expertise collective

Comité d'experts spécialisé « Valeurs sanitaires de références »

Novembre 2017

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, aiguë, subchronique, chronique, inhalation, chloroanilines

Key words

Toxicological Reference Value, TRV, chronic, inhalation route, chloroanilines

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

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

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

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

- CES « Valeurs sanitaires de référence » - 23 et 24 novembre 2017

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 de IARC (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. Reginald Edward 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 – Compétences : médecine, toxicologie industrielle

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 - (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 l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Compétences : Neurotoxicité, 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

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 8 décembre 2016 et 12 janvier 2017

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 – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire

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

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies de CIRC (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 – Pharmacien toxicologue, ERT, retraité de l'INRS

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

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

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

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

M. Laurent BODIN - Chef de projets scientifiques-Anses

M. Christophe ROUSSELLE - Chef d'Unité-Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux.....	10
Liste des figures	11
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise.....	12
1.1 Contexte.....	12
1.2 Objet de la saisine.....	13
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	13
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.	13
2 Informations générales.....	14
2.1 Identification des substances (isomères de la chloroanilines et 2,5-dichloroaniline) .	14
2.2 Propriétés physico-chimiques	14
2.3 Classifications.....	16
2.4 Sources et utilisations	16
3 Synthèse des données toxicologiques	17
3.1 Toxicocinétique.....	17
3.1.1 Absorption	17
3.1.2 Distribution	18
3.1.2.1 4-chloroaniline.....	18
3.1.2.2 2-chloroaniline.....	18
3.1.3 Métabolisme.....	18
3.1.3.1 4-chloroaniline.....	18
3.1.3.2 2-chloroaniline.....	18
3.1.3.3 3-chloroaniline.....	19
3.1.4 Excrétion	19
3.2 Toxicité aiguë	19
3.2.1 Données chez l'Homme.....	19
3.2.2 Données chez l'animal.....	20
3.3 Toxicité subaiguë.....	21
3.4 Irritation – sensibilisation	21
3.5 Toxicité subchronique	22
3.5.1 4-chloroaniline.....	22
3.5.2 2-chloroaniline et 3-chloroaniline	22
3.6 Toxicité chronique	24
3.7 Effets sur la reproduction et le développement.....	25
3.7.1 Données chez l'Homme.....	25
3.7.2 Données chez l'animal.....	25
3.8 Génotoxicité	25
3.8.1 4-chloroaniline.....	25
3.8.2 2 et 3-chloroaniline.....	27

3.9	Cancérogénicité	27
3.10	Mécanismes d'action	29
3.11	Extrapolation de l'animal à l'Homme	30
4	Recueil des valeurs toxicologiques de référence	31
5	Proposition de VTR aiguë, subchronique et chronique	32
5.1	Choix de l'effet critique	32
5.2	Analyse des VTR existantes	32
5.3	Construction des VTR aigus	32
5.3.1	VTR aigus par voie orale pour la 2- et la 3-chloroaniline.....	32
5.3.1.1	Choix de l'étude clé	32
5.3.1.2	Choix de la dose critique	33
5.3.1.2.1	<i>Ajustement allométrique</i>	34
5.3.1.2.2	<i>Extrapolation voie à voie pour la construction de la VTR pour la voie respiratoire</i>	35
5.3.1.3	Choix des facteurs d'incertitude	35
5.3.1.4	Proposition de VTR aigus par voie orale pour la 2- et la 3-chloroaniline et niveau de confiance	36
5.3.1.5	Proposition de VTR aigus par voie respiratoire pour la 2- et la 3-chloroaniline et niveau de confiance	37
5.3.2	VTR aiguë pour la 4-chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline	37
5.4	Construction des VTR subchroniques	38
5.4.1.1	VTR par voie orale et respiratoire pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline.....	38
5.4.1.1.1	<i>Choix de l'étude clé et de la dose critique</i>	38
5.4.1.1.2	<i>Ajustement allométrique</i>	40
5.4.1.1.3	<i>Extrapolation voie à voie pour les VTR pour la voie respiratoire</i>	40
5.4.1.1.4	<i>Choix des facteurs d'incertitude</i>	40
5.4.1.1.5	<i>Proposition de VTR subchronique par voie orale et niveau de confiance</i>	41
5.4.1.1.6	<i>Proposition de VTR subchroniques par voie respiratoire</i>	42
5.4.1.2	2,5-dichloroaniline	42
5.5	Construction des VTR chroniques	43
5.5.1.1	4-chloroaniline.....	43
5.5.1.1.1	<i>Choix de l'étude clé et de la dose critique</i>	43
5.5.1.1.2	<i>Ajustement allométrique</i>	45
5.5.1.1.3	<i>Extrapolation voie à voie pour la VTR respiratoire</i>	46
5.5.1.1.4	<i>Choix des facteurs d'incertitude</i>	46
5.5.1.1.5	<i>Proposition de VTR par voie orale et niveau de confiance</i>	46
5.5.1.1.6	<i>Proposition de VTR par voie respiratoire et niveau de confiance</i>	47
5.5.1.2	2-chloroaniline et 3-chloroaniline.....	47
6	Conclusions	50
7	Bibliographie	55
ANNEXES	57
Annexe 1 : Lettre de saisine		58

Sigles et abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ARS	Agence régionale de santé
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMD	Benchmark Dose
BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose
BMDU	Limite supérieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose
BMR	Benchmark Response
CES	Comité d'Experts Spécialisés
CHO	Cellule d'ovaire de hamster chinois
CIRC	Centre international de Recherche sur le Cancer
CL ₅₀	Concentration létale 50
DGS	Direction générale de la santé
DL ₅₀	Dose létale 50
ECHA	European Chemical Agency (= agence européenne des substances chimiques)
EFSA	European Food Safety Agency (= agence européenne de sécurité des aliments)
ERU	Excès de risque unitaire
EQRS	Evaluation quantitative de Risques Sanitaires
HEC/D	Concentration/dose équivalente humaine (= Human Equivalent Concentration/Dose)
ICPE	Installation classée pour l'environnement
IPCS	International Programme on Chemical Safety (= Programme international sur la sécurité des substances chimiques)
LLNA	Local lymph node assay
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)
MethHb	Méthémoglobinémie
NCI	National Cancer Institute
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NTP	National Toxicology Program
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment (Californie - États-Unis)
OMS	Organisation mondiale de la santé
RfD	Reference Dose
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (=Institut National Hollandais pour la Santé Publique et l'Environnement)

UDS	Unscheduled DNA synthesis
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 _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)
VR	Valeur de référence
VTR	Valeur Toxicologique de Référence
VTi	Valeur Toxicologique Indicative

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification des 4-, 3- et 2-chloroaniline (INERIS, 2011 a, b et 2012) et de la 2,5-dichloroaniline	14
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques de la 4-chloroaniline (INERIS, 2011a, b et 2012)	15
Tableau 3 : Analyse comparée des LD/LC ₅₀ pour les 3 isomères de la chloroaniline réalisé par le NTP (1998)	21
Tableau 4 : Relation entre doses de 2-chloroaniline et de 3-chloroaniline critiques en mg/kg pc/j et augmentation de la méthémoglobulinémie pour des expositions subaiguës (3 jours), et subchroniques (93 jours) chez le rat (NTP, 1998)	23
Tableau 5 : Relation entre doses de 2- et de 3-chloroaniline critiques en mg/kg pc/j et augmentation de la méthémoglobulinémie pour une exposition subchronique (93 jours) chez la souris (NTP, 1998)	23
Tableau 6 : Relation entre doses de 4-chloroaniline en mg/kg pc/j et augmentation de la méthémoglobulinémie pour une exposition subchronique (13 semaines) chez le rat (NTP, 1989)	24
Tableau 7 : Tumeurs observées durant l'étude de cancérogénicité chez le rat et la souris (NCI, 1979)	28
Tableau 8 : Tumeurs observées durant l'étude de cancérogénicité chez le rat et la souris (NTP, 1989)	29
Tableau 9 : VTR chronique à seuil et sans seuil par voie orale pour la p- chloroaniline	31
Tableau 10 : Doses critiques calculées en mg/kg pc/j associées à une augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 2- et la 3-chloroaniline construites pour des expositions aiguës (3 jours)	33
Tableau 11 : VTR aiguë pour la voie orale de la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline	36
Tableau 12 : VTR aiguë pour la voie respiratoire de la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline	37
Tableau 13 : Doses critiques calculées en mg/kg pc/j associées à une augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 2-, la 3- et la 4-chloroaniline construites pour des expositions subchroniques (13 semaines)	38
Tableau 14 : VTR subchronique par voie orale de la 2-, 3- et la 4-chloroaniline	41
Tableau 15 : VTR subchronique pour la voie respiratoire de la 2, 3 et 4-chloroaniline	42
Tableau 16 : Doses critiques calculées en mg/kg pc/j associées à une augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 4-chloroaniline construites pour des expositions de 12, 18 et 24 mois d'expositions	43
Tableau 17 : Relation entre doses d'exposition de 4-chloroaniline et l'incidence de tumeurs (NTP, 1989) chez le rat	44
Tableau 18 : VTR chronique pour la voie orale de la 4-chloroaniline	46
Tableau 19 : VTR chronique pour la voie respiratoire de la 4-chloroaniline	47
Tableau 20 : VTR chroniques pour la voie orale de la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline	48
Tableau 21 : VTR chronique pour la voie respiratoire de la 2 et 3-chloroaniline	48
Tableau 22 : VTR aiguës par voie orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline	51
Tableau 23 : VTR subchroniques par voie orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline	52
Tableau 24 : VTR chroniques par voie orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline	53
Tableau 25 : Valeur de référence pour la voie orale	54
Tableau 26 : Valeur de référence pour la voie respiratoire	54

Liste des figures

- Figure 1 : Modélisation de l'augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 2-chloroaniline pour une exposition aiguë _____ 34
- Figure 2 : Modélisation d'augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 3-chloroaniline pour une exposition aiguë _____ 34
- Figure 3 : Modélisation d'augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 2-chloroaniline pour une exposition subchronique par gavage _____ 39
- Figure 4 : Modélisation d'augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 3-chloroaniline pour une exposition subchronique par gavage. _____ 39
- Figure 5 : Modélisation de l'augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie chez le rat par rapport au groupe témoin pour la 4-chloroaniline pour une exposition chronique par gavage _____ 44
- Figure 6 : Modélisation de l'augmentation de 10 % des tumeurs de la rate chez le rat mâle par rapport au groupe témoin pour la 4-chloroaniline par gavage _____ 45

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, 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 à seuil comprend les quatre étapes suivantes :

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

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

Une valeur toxicologique indicative (VTi) est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque.

Une VTi pourra être proposée lorsque les conditions nécessaires à l'élaboration d'une VTR ne sont pas remplies et qu'une évaluation quantitative de risque sanitaire (EQRS) est nécessaire dans un contexte d'exposition donné :

1. en cas d'**insuffisance des données** disponibles sur la substance pour caractériser le danger de la substance ou de **doute sur l'adversité de l'effet**. Dans ce cas, une veille bibliographique sera menée par l'Anses sur ces substances en vue de remplacer les valeurs toxicologiques indicatives par des VTR si de nouvelles données le permettent ;
2. en cas de **contraintes de temps et/ou de ressources**. Dans ce cas, la valeur toxicologique indicative serait élaborée au mieux dans le temps imparti, puis un travail complémentaire sera le cas échéant réalisé afin de proposer une VTR.

Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi un niveau de confiance faible.

Sur la base de l'approche OMS/IPCS proposant une démarche par étapes pour l'évaluation des risques sanitaires dont la première étape consiste en une évaluation préliminaire (screening), la VTi pourra être utilisée pour écarter un risque dans une approche d'évaluation de risque de premier niveau (conservatrice) (OMS-IPCS, 2010).

A la différence d'une VTR, une VTi ne devrait être utilisée que dans le contexte qui l'a vu naître. Les conditions d'application devront donc être clairement explicitées pour chacune des VTi

proposées. Comme pour les VTR, l'utilisation et l'interprétation des VTi devront obligatoirement tenir compte de la voie d'exposition, de la durée d'exposition, de la période d'exposition, du type d'effet auquel elle est associée et de la population destinée à être protégée.

Une VTi est élaborée en suivant les mêmes étapes qu'une VTR.

Les VTi ne seront pas publiées sur le site de l'Anses indépendamment des évaluations du risque simplifié qui auront justifié leur élaboration.

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 Direction générale de la santé (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, le perchloroéthylène, l'ammoniac et quatre chloroanilines, l'Anses ne recommande pas de 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 les 4 chloroanilines : la 4-chloroaniline (CAS n°106-47-8), la 3-chloroaniline (CAS N° 108-42-9), la 2-chloroaniline (CAS n° 95-51-2), et la 2,5-dichloroaniline (CAS n°95-82-9). Il a été également demandé d'analyser la pertinence de sélectionner une substance traceuse de risque.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

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

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


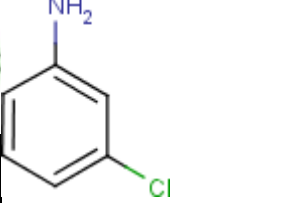
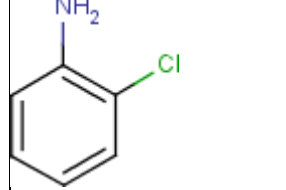
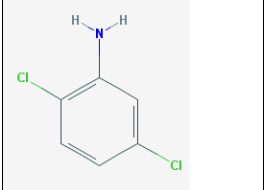
Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'agence (www.anses.fr).

2 Informations générales

2.1 Identification des substances (isomères de la chloroanilines et 2,5-dichloroaniline)

L'identification de la 4-chloroaniline (CAS n°106-47-8), la 3-chloroaniline (CAS N° 108-42-9), la 2-chloroaniline (CAS n° 95-51-2), et la 2,5-chloroaniline (CAS n°95-82-9) est présentée dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Identification des 4-, 3- et 2-chloroaniline (INERIS, 2011 a, b et 2012) et de la 2,5-dichloroaniline

Substance chimique	4-chloroaniline	3-chloroaniline	2-chloroaniline	2,5-dichloroaniline
Synonymes	p-Chloroaniline, 4-Chlorobenzenamine, Benzenamine, 4-chloro-p-Chlorophenylamine, chlorophenylamine, para-Chloroaniline, 1-Amino-4-chlorobenzene, 4-Aminochlorobenzene, 4-Amino-1-chlorobenzene, 4-Chloro-1-aminobenzene p-Aminochlorobenzene, 4-Chloranilin, Aniline, p-chloro-, p-CA, 4-Chlorobenzeneamine, 4-Chloro-phenylamine, Aniline, 4-chloro-	Meta aminochlorobenzene 1-amino-3-chlorobenzene 4-m-Chloroaniline 3-Chlorobenzenamine 3-Chlorophenylamine	1-Amino-2-chlorobenzène O-Chloraniline O-Chloroaniline 2-Chloroaniline 2-Chlorobenzènamine 2-Chlorophénylamine Aniline, o-chloro- o-Aminochlorobenzène o-Chloroaminobenzène	2,5-dichloroaniline 1-Amino-2,5-dichlorobenzene Azoic Diazo Component 3
Numéro CAS	106-47-8	108-42-9	95-51-2	95-82-9
Formule brute	C ₆ H ₆ ClN	C ₆ H ₆ ClN	ClC ₆ H ₄ NH ₂	C ₆ H ₅ Cl ₂ N
Structure moléculaire				

2.2 Propriétés physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques sont présentées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques de la 4-chloroaniline (INERIS, 2011a, b et 2012)

	4-chloroaniline		3-chloroaniline		2-chloroaniline		2,5-dichloroaniline	
	Valeurs	Source	Valeurs	Source	Valeurs	Source	Valeurs	Source
Poids moléculaire [g/mol]	127,57	HSDB, 2011	127,57	HSDB, 2011	127,6	EC, 1992	162,013 g/mol	Pubchem *Toxnet
Hydrosolubilité [mg/L]	3900 à 25°C	HSDB, 2011	5400 à 20°C		8165 à 25°C		230 mg/L *	
Pression de vapeur [Pa]	3,6 à 26°C	HSDB, 2011	8,8 à 25°C		22,66 à 20°C		<1	
Constante de Henry [Pa.m ³ /mol]	0,07 - 0,1 (calculé) 0,3 (calculé)	BUA, 1993 HSDB, 2011	0,1		0,354		1,6.10 ⁻⁶	
Log du coefficient de partage Octanol-eau (log Kow)	1,83	HSDB, 2011	1,88 (QSAR)		1,9		2,92	
Coefficient d'adsorption (carbone organique) (Koc) [L/kg]	91	US EPA, 2011	250 (estimation à partir d'un log Kow à 1,88)		79		355	
Constante de dissociation (pKa)	3,982	HSDB, 2011	3,521 à 25°C : dans l'environnement la substance est principalement sous forme non-ionique		2,661 à 25°C : dans l'environnement la substance est principalement sous forme non-ionique.		-	

2.3 Classifications

Seule la 4-chloroaniline possède une classification CLP harmonisée :

- Toxicité aiguë de catégorie 3 – H301 (Toxique en cas d'ingestion)
- Toxicité aiguë de catégorie 3 – H311 (Toxique par contact cutané)
- Toxicité aiguë de catégorie 3 – H331 (Toxique par inhalation)
- Sensibilisant cutané de catégorie 1 – H317 (Peut provoquer une allergie cutanée)
- Cancérogène de catégorie 1B – H350 (Peut provoquer le cancer)
- Danger pour le milieu aquatique – toxicité aiguë de catégorie 1 – H400 (très toxique pour les organismes aquatiques)
- Danger pour le milieu aquatique – toxicité aiguë de catégorie 1 – H410 (Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme).

2.4 Sources et utilisations

La 2-chloroaniline est utilisée comme un intermédiaire de synthèse pour pigments, caoutchoucs, pesticides et encres (INERIS, 2012).

La 3-chloroaniline est ou a été utilisée comme un intermédiaire de synthèse pour pigments, encres, insecticides et produits pharmaceutiques (INERIS, 2011b).

La 4-chloroaniline est ou a été utilisée comme intermédiaire dans la synthèse de nombreux produits utilisés dans les produits phytopharmaceutiques, les pigments, les colorants, les cosmétiques, et des produits pharmaceutiques (INERIS, 2011a).

Aucune indication sur l'utilisation de la 2,5-dichloroaniline n'est disponible.

Dans une étude conduite en Bavière en 2003-2004, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline ont été détectées, chez respectivement 15,9 % et 38,2 % des 1 004 volontaires participant à l'étude. Les médianes et les 95^{ème} percentiles des concentrations urinaires des 2 amines étaient respectivement de 0,03 et 0,25 µg/L et de 0,03 et 0,93 µg/L. Les deux amines étaient plus souvent détectables chez les hommes que chez les femmes et chez les fumeurs que chez les non-fumeurs, mais la concentration mesurée n'était pas significativement influencée par le genre ou le statut tabagique. Dans cette étude, la 2-chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline n'ont pas été recherchées (Kütting *et al.*, 2009)

3 Synthèse des données toxicologiques

L'élaboration des VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives s'appuyant sur le jugement d'experts (Anses, 2017).

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

Les termes suivants ont été utilisés : Aniline Compounds, Hemoglobins, 4-chloroaniline, 3-chloroaniline, 2-chloroaniline, 2,5-dichloroaniline, Methemoglobin.

Au final, les données de toxicité décrites dans ce rapport sont issues principalement des études du NTP et concernent la voie orale :

- Le NTP (1989) rapporte les résultats de toxicité de la 4-chloroaniline sur 16 jours, 13 semaines et 2 ans.
- Le NTP (1998) a réalisé des études comparatives jusqu'à 13 semaines sur la toxicité de la 2- et de la 3-chloroaniline.

Il n'existe pas d'étude identifiée relative à la 2,5-dichloroaniline.

3.1 Toxicocinétique

La plupart des données disponibles concernent la 4-chloroaniline, sa toxicocinétique et son métabolisme chez des petits rongeurs et chez le singe. Les voies métaboliques et les paramètres toxicocinétiques semblent respectivement semblables et assez proches, dans toutes les espèces. Les rares données disponibles chez l'Homme sont en faveur de caractéristiques semblables dans l'espèce humaine.

Les rares données expérimentales disponibles sur la toxicocinétique et/ou le métabolisme de la 2-chloroaniline et de la 3-chloroaniline indiquent des cinétiques et des voies métaboliques semblables à celles de la 4-chloroaniline.

3.1.1 Absorption

La 4-chloroaniline est totalement absorbée par voie orale. Chez le singe rhésus, le pic plasmatique a été atteint $0,5 \pm 1$ h après l'administration intra gastrique (20 mg [^{14}C] 4-chloroaniline/kg pc), (Ehlhardt et Howbert, 1991 cité par OMS-IPCS, 2003).

L'absorption cutanée de la 4-chloroaniline a également été étudiée chez des rats femelles par microdialyse. Le passage transcutané a été de 332,1 ng.h/mL et le pic plasmatique a été atteint $3,3 \pm 6$ heures après le début de l'application (El Marbouh *et al.*, 2000, cité par OMS-IPCS, 2003). Plusieurs études, *in vitro*, confirment la bonne absorption cutanée de la 4-chloroaniline.

Plusieurs cas d'intoxication aiguë humaine par la 4-chloroaniline sont rapportés. Ils ont fait suite à son ingestion, son inhalation et/ou son absorption cutanée (OMS-IPCS, 2003 ; Pizon *et al.*, 2009 ; Messmer *et al.*, 2015). Bader *et al.* (2014) ont évalué l'exposition des pompiers (n = 39) après le déversement de 4-chloroaniline provenant d'un baril chimique en combustion. Les auteurs montrent que la concentration urinaire de 4-chloroaniline était au-dessus de 5 $\mu\text{g/g}$ de créatinine (considérée par les auteurs comme la valeur de bruit de fond). Les vêtements des pompiers contaminés étant la source d'exposition la plus probable, cette étude suggère une absorption

cutanée de la 4-chloroaniline chez l'Homme. De même, des métabolites de la 4-chloroaniline ont été détectés et mesurés dans les urines, après des expositions ou des intoxications par ingestion, inhalation ou contamination cutanée (OMS-IPCS, 2003 ; Pizon *et al.*, 2009 ; van der Vorst *et al.*, 1990 ; Yoshida *et al.*, 1991 et 1992).

Il n'y a pas d'information publiée sur l'absorption des autres isomères de la monochloroaniline ou celle des polychloroanilines. Par analogie avec la 4-chloroaniline, il est vraisemblable, que quelle que soit la voie d'exposition considérée, le passage systémique de ces substances soit important.

3.1.2 Distribution

3.1.2.1 4-chloroaniline

Après une administration intraveineuse de 3 mg [¹⁴C] 4-chloroaniline/kg pc chez des rats, la plus grande partie de la radioactivité a été mesurée dans les 15 minutes suivant l'administration dans les tissus suivants: foie (8% de la dose administrée), muscle (34%), tissus graisseux (14%), peau (12%), sang (7%) et intestin et rein (chacun d'environ 3%) (OMS-IPCS, 2003). Dans le sang, la radioactivité se concentre dans les hématies. Dans tous les tissus, elle a décliné rapidement, mais elle a persisté dans les hématies, en raison de la liaison covalente de métabolites avec l'hémoglobine. A la 72^{ème} heure, la concentration dans tous les tissus (hors les hématies) était inférieure à 0,5 % de la dose administrée. Au 7^{ème} jour, elle était encore de 0,8 à 2,3 % dans les hématies.

Des résultats semblables ont été observés après administration intrapéritonéale, dans la même espèce (Dial *et al.*, 1998). De même, la liaison covalente de métabolites avec des protéines intracellulaires ont été observées aussi au niveau du foie et du rein.

La formation d'adduits à l'hémoglobine a également été objectivée chez des travailleurs exposés à la 4-chloroaniline. Elle était plus marquée chez les acétyleurs lents (Riffelmann *et al.*, 1995).

3.1.2.2 2-chloroaniline

Une étude conduite chez le rat (Dial *et al.*, 1998) a montré qu'après administration intrapéritonéale, la distribution de la 2-chloroaniline était assez semblable à celle de la 4-chloroaniline, mais que la décroissance des concentrations tissulaires était plus rapide avec la 2-chloroaniline qui formait également moins d'adduits avec les protéines hépatiques et rénales.

3.1.3 Métabolisme

Peu d'informations sont disponibles sur le métabolisme des composés d'intérêt.

3.1.3.1 4-chloroaniline

Chez le rat, la souris, le lapin, le chien et le singe, la 4-chloroaniline est rapidement métabolisée au niveau hépatique. Ce sont des monooxygénases à cytochrome P450 qui catalysent l'hydroxylation en 2-amino-5-chlorophénol et aussi la N-hydroxylation. Au niveau des hématies, c'est le métabolite N-hydroxylé qui est à l'origine de l'oxydation du fer ferreux de l'hémoglobine en fer ferrique et de la production de méthémoglobine (OMS-IPCS, 2003). C'est le 4-chloronitrosobenzène qui se lie à l'hémoglobine (et aux protéines cytosoliques et microsomales, au niveau du foie et des reins) en formant des adduits.

Dans un cas d'intoxication aiguë humaine par la 4-chloroaniline, le 2-amino-5-chlorophénol, le p-chloroformanilide, le p-chloroacétanilide le 4-chloro-2-hydroxyacétanilide, la p-chloroacétaniline et la 2,4-dichloroaniline ont été identifiés dans les urines de l'intoxiqué (Yoshida *et al.*, 1991). La p-chloroacétaniline et le 2-amino-5-chlorophénol étaient principalement présents sous formes de glucuro- et sulfoconjugués (Yoshida *et al.*, 1992).

3.1.3.2 2-chloroaniline

Après administration intrapéritonéale de la 2-chloroaniline à des rats, les principaux métabolites urinaires identifiés étaient ceux produits par la para-hydroxylation : le 4-amino-3-chlorophénol libre

(10,8 %) et ses glucuro- et sulfonconjugués (respectivement 3,7 et 31,6 %) ; des N-sulfo et glucuroconjugués étaient aussi présents en concentrations élevées (18,6 % et 8,6 %). Le produit inchangé rendait compte de 16,9 % de la radioactivité. Les concentrations des dérivés acétylés étaient très faibles ou indétectables (Hong et Rankine, 1998). Une étude *in vitro* indique que chez le lapin, ce sont des monooxygénases à cytochrome P450 qui catalysent la para-hydroxylation de l'2-chloroaniline (Ichikawa *et al.*, 1969).

3.1.3.3 3-chloroaniline

Dans une étude *in vivo*, chez le rat, les principaux métabolites identifiés dans les urines après l'administration orale de 3-chloroaniline étaient le 2-amino-4-chlorophénol et le 4-amino-2-chlorophénols, ainsi que leurs dérivés glucuro- et sulfoconjugués (Böhme et Grunow, 1969).

3.1.4 Excrétion

L'excrétion de la 4-chloroaniline se fait principalement par les urines. Dans les 24 heures, l'excrétion urinaire chez des rats, des souris et des singes d'une dose de 20 mg [¹⁴C] de 4-chloroaniline/kg pc (après administration intra gastrique) représentait 93, 84 et 50 - 60% de la 4-chloroaniline radiomarquée et l'excrétion fécale représentait 6,9, 4,5, et 0,5 - 1,0%, respectivement. L'élimination était pratiquement complète chez le rat (98%) dans les 48 heures et chez la souris (89%- 91% récupérés au total) dans les 72 heures, alors que chez le singe, des quantités étaient encore excrétées (entre 3,1 et 5,8%) 72 à 96 heures après l'administration (Ehlhardt & Howbert, 1991 cité par OMS-IPCS, 2003).

Chez le rat, la souris et le singe, le principal métabolite urinaire de la 4-chloroaniline est le 2-amino-5-chlorophénylsulfate (respectivement 54, 49 et 36 % de la radioactivité), suivi de l'acide 4-chlorooxalinique (11, 6,6 et 1 %). Le produit inchangé ne représentait que 0,2, 1,7 et 2,5 % de la dose reçue ; les autres métabolites indiqués dans la figure 1, moins encore. Cependant, ces résultats doivent être considérés avec prudence, car dans l'étude d'Erlhardt et Howbert (1991) des métabolites urinaires non identifiés représentaient 14 à 22 % (selon l'espèce) de la dose reçue.

La demi-vie d'élimination de la 4-chloroaniline inchangée est de 3-4 heures, chez le rat (NTP, 1989).

Après une administration orale (gavage) de 0,3, 3 ou 30 mg [¹⁴C] 4-chloroaniline/kg pc à des rats, 77% de la 4-chloroaniline radio marquée ont été excrétés dans l'urine et 10% dans les fèces dans les 24 heures, indépendamment de la dose. Dans les 72 heures, l'excrétion était presque complète (NTP, 1989).

Après une administration orale (gavage) de 0,3, 3 ou 30 mg [¹⁴C] 4-chloroaniline/kg pc à des rats, 77% de la 4-chloroaniline radio marquée ont été excrétés dans l'urine et 10% dans les fèces dans les 24 heures, indépendamment de la dose. Dans les 72 heures, l'excrétion était presque complète (NTP, 1989).

3.2 Toxicité aiguë

3.2.1 Données chez l'Homme

Intoxication aiguë humaine

Plusieurs cas d'intoxication aiguë humaine par la 4-chloroaniline sont rapportés. Ils ont fait suite à son ingestion, son inhalation et/ou son absorption cutanée (OMS-IPCS, 2003 ; Pizon *et al.*, 2009 ; Messmer *et al.*, 2015). Tous ont entraîné une méthémoglobinémie. Un de ces cas d'intoxication aiguë a été mortel.

Plusieurs cas d'intoxication aiguë de nourrissons par la 4-chloroaniline sont également publiés : ils ont fait suite au traitement cutané des enfants par une solution de chlorhexidine laissée à proximité

d'une source de chaleur : la chaleur décompose la chlohexidine en libérant de la 4-chloroaniline (van der Vorst *et al.*, 1990).

Il n'y a pas de cas rapporté d'intoxication aiguë humaine par la 3- ou la 2-chloroaniline.

3.2.2 Données chez l'animal

4-chloroaniline

L'administration de 4-chloroaniline à des rats, par voie intrapéritonéale, orale, cutanée ou respiratoire, a produit, une cyanose, une méthémoglobinémie, une hémolyse et une atteinte tubulaire rénale. Par voie respiratoire, la CL₅₀ était de 2340 mg/m³ (pour une exposition de 4 heures). Par voie orale, les DL₅₀ étaient comprises entre 300 et 420 mg/kg (OMS-IPCS, 2003). Chez la souris et le cobaye, les DL₅₀ sont respectivement comprises entre 228 et 500 mg/kg et égale à 350 mg/kg (OMS-IPCS, 2003). *In vivo*, le chien est l'espèce la plus sensible aux effets méthémoglobinisants. Elle est suivie du singe qui est lui-même plus sensible que le rat. *In vitro*, la sensibilité d'espèce aux effets méthémoglobinisants est la même qu'*in vivo* et la sensibilité des hématies humaines est voisine de celle des hématies de singe (OMS-IPCS, 2003).

2-chloroaniline

Les effets observés après l'administration de 2-chloroaniline sont les mêmes qu'après celle de 4-chloroaniline. La DL₅₀ par voie orale est de 1016 mg/kg chez le rat et de 256 mg/kg chez la souris. La CL₅₀ chez le rat, pour une exposition de 4 heures, est supérieure à 4406 mg/m³ dans une étude et égale à 6100 mg/m³, dans une autre (ECHA, 2017). Dans la même espèce, la DL₅₀ par voie cutanée est de 1000 mg/kg. Elle est de 222 mg/kg chez le chat (ECHA, 2017).

3-chloroaniline

Les effets observés après l'administration de 3-chloroaniline sont les mêmes qu'après celle de 4-chloroaniline. La CL₅₀ chez la souris, pour une exposition de 4 heures, est de 550 mg/m³. Chez le rat, elle est comprise entre 500 et 800 mg/m³ (ECHA, 2017). Dans la même espèce, la DL₅₀ par voie cutanée est de 250 mg/kg (ECHA, 2017).

Globalement, les manifestations de l'intoxication aiguë sont semblables avec les 3 isomères (Tableau 3). Ils sont mieux documentés pour la 4-chloroaniline que pour les deux autres isomères. A doses égales, la 2-chloroaniline semble moins toxique que les deux autres.

Tableau 3 : Analyse comparée des LD/LC₅₀ pour les 3 isomères de la chloroaniline réalisé par le NTP (1998)

Species	Route of Exposure	LC ₅₀ or LD ₅₀	Reference
<i>o</i>-Chloroaniline			
Mouse	Inhalation	2.00 mmol/kg	RTECS, 1995 #
Mouse	Dermal	256 mg/kg	RTECS, 1995 #
Cat	Inhalation	1.74 mmol/kg	RTECS, 1995 #
Cat	Dermal	222 mg/kg	RTECS, 1995 #
<i>m</i>-Chloroaniline			
Rat	Oral	256 mg/kg	Malkova, 1966
Rat	Dermal	250 mg/kg	Izmerov <i>et al.</i> , 1982
Rat	Intraperitoneal	200 mg/kg	RTECS, 1995
Mouse	Inhalation	550 mg/m ³ /4H	Izmerov <i>et al.</i> , 1982
Mouse	Inhalation	2.62 mmol/kg	RTECS, 1995
Mouse	Dermal	334 mg/kg	RTECS, 1995
Mouse	Intraperitoneal	200 mg/kg	RTECS, 1995
Guinea pig	Oral	250 mg/kg	Malkova, 1966
Guinea pig	Intraperitoneal	100 mg/kg	RTECS, 1995
Cat	Inhalation	1.75 mmol/kg	RTECS, 1995
Cat	Dermal	223 mg/kg	RTECS, 1995
<i>p</i>-Chloroaniline			
Rat	Oral	300 mg/kg	Khamuev, 1967
Rat	Dermal	3,200 mg/kg	Sziza and Podhragyal, 1957
Rat	Intraperitoneal	420 mg/kg	Sziza and Podhragyal, 1957
Mouse	Oral	100 mg/kg	RTECS, 1995
Mouse	Inhalation	1.79 mmol/kg	RTECS, 1995
Mouse	Dermal	228 mg/kg	RTECS, 1995
Mouse	Intraperitoneal	200 mg/kg	RTECS, 1995
Rabbit	Dermal	360 mg/kg	Smyth <i>et al.</i> , 1962
Guinea pig	Oral	350 mg/kg	Izmerov <i>et al.</i> , 1982
Cat	Inhalation	1.88 mmol/kg	RTECS, 1995
Cat	Dermal	239 mg/kg	RTECS, 1995

3.3 Toxicité subaiguë

Il n'y a pas d'information publiée sur la toxicité subaiguë chez l'Homme, des différents isomères de la chloroaniline.

4-chloroaniline

L'administration orale de 25 à 400 mg de 4-chloroaniline/kg pc (12 gavages en 16 jours) à des rats et des souris, a conduit à une cyanose (à partir de 100 mg/kg pc), des signes d'intoxication (augmentation du volume de la rate, respiration difficile) (à partir de 25 mg/kg pc) et une hémossidérose (à partir de 100 mg/kg pc) (NTP, 1989).

De même, l'exposition de rats à 0, 12, 53 ou 120 mg/m³, 6 heures par jour et 5 jours par semaine, pendant 2 semaines a produit une méthémoglobinémie, une hémolyse et une hémossidérose dès 12 mg/m³ (DuPont, 1982 cité par IPCS, 2003).

3.4 Irritation – sensibilisation

Les études disponibles indiquent des effets non irritant à faiblement irritants pour la peau des différents isomères de la chloroaniline (ECHA, 2017).

Ils sont faiblement à modérément irritants pour les yeux.

Le pouvoir sensibilisant de la 4-chloroaniline a été étudié par un test de Draize, un test de maximisation de Magnusson et Kligman et un test LLNA. Le premier est négatif et les deux autres positifs.

Concernant, la 2-chloroaniline, un test de maximisation est négatif.

On ne dispose pas d'étude du pouvoir sensibilisant de la 3-chloroaniline.

3.5 Toxicité subchronique

Il n'y a pas d'information publiée sur la toxicité subchronique chez l'Homme, des différents isomères de la chloroaniline.

3.5.1 4-chloroaniline

Des rats et/ou des souris ont reçu, pendant des périodes de 3 mois à un an, des doses de respectivement 5 à 80 mg/kg/j et 7,5 à 120 mg/kg/j de 4-chloroaniline. Les effets observés ont été semblables à ceux rapportés pour les intoxications aiguës et subaiguës : méthémoglobinémie, hémolyse, hémosidérose du foie, des reins et de la rate. Ils étaient présents dès la plus faible dose (5 mg/kg/j chez les rats Fischer 344 et 7,5 mg/kg/j chez les souris B6C3F1) (NTP, 1989).

Plusieurs études ont exposé des rats ou des chats par voie respiratoire, à des concentrations de 4-chloroaniline, respectivement comprises entre 0,15 et 15 mg/m³ et entre 1,04 et 6,9 mg/m³, pendant plusieurs heures par jour. Elles ont toutes montré l'apparition d'une méthémoglobinémie et d'une anémie, dès la plus faible dose (études de Kondrashov, 1969 cité par OMS-IPCS, 2003).

3.5.2 2-chloroaniline et 3-chloroaniline

Le NTP a réalisé des études comparatives des effets des 3 isomères, chez le rat Fischer 344 (10 rats mâles et 10 femelles) et chez la souris B6C3F1 à des doses de 0, 10, 20, 40, 80 ou 160 mg/kg pc/j administrées par gavage, pour la 2- et 3-chloroaniline et à des doses de 0, 5, 10, 20, 40 et 80 mg/kg pc/j pour les rats et de 0, 7,5, 15, 30, 60 et 120 mg/kg pc/j pour les souris (NTP, 1998).

Les rats et les souris ont été examinés en histopathologie, pour rechercher des effets sur le système reproducteur et de possibles variations de paramètres biologiques (hématologie, paramètres biochimiques). Les résultats des études sur la 2- et la 3-chloroaniline ont été comparés aux résultats des études sur la 4-chloroaniline réalisées précédemment dans des conditions expérimentales similaires par le NTP. Parmi les effets observés, le système hématopoïétique semble être la cible principale des trois isomères de la chloroaniline. Les effets hématologiques observés sont les mêmes que ceux décrits précédemment : méthémoglobinémie, hémolyse, hémosidérose hépatique, rénale et splénique, foyers d'hématopoïèse extra-médullaire (NTP, 1998).

Les concentrations de méthémoglobine ont augmenté chez tous les rats et souris exposés (Tableau 4 à Tableau 6). Une analyse comparative des résultats, basée sur les NOAEL/LOAEL, suggère que la 4-chloroaniline est le plus puissant des isomères de la chloroaniline dans l'induction de la formation de méthémoglobine chez le rat et la souris, suivie de la 3-chloroaniline puis de la 2-chloroaniline (NTP, 1998).

Tableau 4 : Relation entre doses de 2-chloroaniline et de 3-chloroaniline critiques en mg/kg pc/j et augmentation de la méthémoglobulinémie pour des expositions subaiguës (3 jours), et subchroniques (93 jours) chez le rat (NTP, 1998)

Methemoglobin Concentrations in Rats for the 13-Week Gavage Studies of <i>o</i> -Chloroaniline (<i>o</i> -CA) and <i>m</i> -Chloroaniline (<i>m</i> -CA)						
Doses (mg/kg)	<i>o</i> -CA			<i>m</i> -CA		
	SD 3	SD 23	SD 93	SD 3	SD 23	SD 93
Males						
0	0.28 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.3 ± 0.02	0.39 ± 0.04	0.21 ± 0.03	0.31 ± 0.02
10	0.24 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.4 ± 0.02**	0.56 ± 0.05**	0.80 ± 0.07**	1.11 ± 0.06**
20	0.34 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.59 ± 0.04**	1.64 ± 0.15**	1.70 ± 0.10**	2.13 ± 0.06**
40	0.31 ± 0.04	0.39 ± 0.05**	0.84 ± 0.04**	2.54 ± 0.17**	3.12 ± 0.12**	3.65 ± 0.19**
80	0.53 ± 0.02**	0.81 ± 0.07**	1.59 ± 0.06**	4.57 ± 0.26**	4.79 ± 0.15**	4.89 ± 0.20**
160	1.24 ± 0.08**	1.70 ± 0.10**	2.79 ± 0.09**	6.13 ± 0.09**	5.11 ± 0.25**	5.83 ± 0.18**
Females						
0	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.37 ± 0.04	0.20 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.26 ± 0.02
10	0.24 ± 0.02	0.26 ± 0.03	0.54 ± 0.03**	0.62 ± 0.06**	1.21 ± 0.09**	1.54 ± 0.06**
20	0.23 ± 0.03	0.47 ± 0.02**	0.83 ± 0.02**	1.94 ± 0.12**	2.60 ± 0.11**	2.95 ± 0.11**
40	0.46 ± 0.02**	0.94 ± 0.09**	1.53 ± 0.07**	3.95 ± 0.13**	4.24 ± 0.13**	4.72 ± 0.21**
80	1.11 ± 0.09**	1.69 ± 0.09**	2.35 ± 0.06**	6.09 ± 0.30*	5.36 ± 0.13**	5.68 ± 0.23**
160	1.92 ± 0.09**	2.46 ± 0.10**	2.80 ± 0.07**	7.32 ± 0.26**	6.89 ± 0.16**	6.56 ± 0.22**

Note. Methemoglobin concentrations in g/dl ± SE. SD, study day.
 * Significantly different ($p \leq 0.05$) from the vehicle control group by Dunn's or Shirley's test.
 ** Significantly different ($p \leq 0.01$) by Shirley's test.

Tableau 5 : Relation entre doses de 2- et de 3-chloroaniline critiques en mg/kg pc/j et augmentation de la méthémoglobulinémie pour une exposition subchronique (93 jours) chez la souris (NTP, 1998)

Methemoglobin Concentrations in Mice Administered <i>o</i> -Chloroaniline (<i>o</i> -CA) or <i>m</i> -Chloroaniline (<i>m</i> -CA) for 93 Days		
Doses (mg/kg)	<i>o</i> -CA	<i>m</i> -CA
Male mice		
0	0.15 ± 0.02	0.19 ± 0.03
10	0.24 ± 0.03*	0.28 ± 0.04
20	0.27 ± 0.03**	0.50 ± 0.08**
40	0.44 ± 0.03**	1.72 ± 0.27**
80	0.79 ± 0.04**	3.22 ± 0.39**
160	2.12 ± 0.32**	3.77 ± 0.09**
Female mice		
0	0.14 ± 0.02	0.18 ± 0.03
10	0.22 ± 0.02*	0.30 ± 0.03*
20	0.24 ± 0.02**	0.60 ± 0.04**
40	0.48 ± 0.03**	1.86 ± 0.29**
80	1.08 ± 0.13**	3.62 ± 0.21**
160	2.39 ± 0.16**	4.60 ± 0.19**

Note. Methemoglobin concentration in g/dl ± SE.
 * Significantly different ($p \leq 0.05$) from the vehicle control group by Dunn's or Shirley's test.
 ** Significantly different ($p \leq 0.01$) by Shirley's test.

Tableau 6 : Relation entre doses de 4-chloroaniline en mg/kg pc/j et augmentation de la méthémoglobinémie pour une exposition subchronique (13 semaines) chez le rat (NTP, 1989)

	Dose (mg/kg)					
	Vehicle Control	5	10	20	40	80
MALE						
n	10	10	9	10	10	10
Methemoglobin (% hemoglobin)	0.08 ± 0.04	0.59 ± 0.10*	0.70 ± 0.24*	0.68 ± 0.20*	0.68 ± 0.19*	0.86 ± 0.16**
Hematocrit (%)	45.5 ± 0.4	42.8 ± 0.5**	42.4 ± 0.2**	42.7 ± 0.4**	39.4 ± 0.3**	36.5 ± 0.4**
Hemoglobin (g/dL)	15.5 ± 0.1	14.7 ± 0.2**	14.6 ± 0.1**	15.1 ± 0.1**	14.2 ± 0.1**	13.4 ± 0.2**
Erythrocytes (10 ⁶ /μL)	9.14 ± 0.06	8.68 ± 0.10**	8.18 ± 0.04**	7.48 ± 0.06**	6.07 ± 0.06**	4.90 ± 0.07**
Nucleated erythrocytes (10 ³ /μL)	0.00 ± 0.00	1.70 ± 0.50	3.44 ± 0.60*	2.90 ± 0.46*	8.70 ± 1.36**	23.80 ± 1.59**
Mean cell volume (fL)	50.1 ± 0.2	49.4 ± 0.2	51.8 ± 0.3**	56.9 ± 0.3**	65.1 ± 0.4**	74.7 ± 0.4**
Mean cell hemoglobin (pg)	16.9 ± 0.1	17.0 ± 0.1	17.9 ± 0.1**	20.1 ± 0.1**	23.5 ± 0.2**	27.3 ± 0.1**
Mean cell hemoglobin concentration (g/dL)	34.0 ± 0.1	34.3 ± 0.2	34.5 ± 0.1**	35.3 ± 0.1**	35.9 ± 0.2**	36.6 ± 0.1**
Leukocytes (10 ³ /μL)	5.49 ± 0.22	6.28 ± 0.23	6.60 ± 0.20	6.55 ± 0.11	12.55 ± 0.82**	3.47 ± 0.23**
Segmented neutrophils (10 ³ /μL)	0.74 ± 0.10	0.86 ± 0.07	1.19 ± 0.14	1.00 ± 0.08	2.07 ± 0.33**	0.66 ± 0.09
Lymphocytes (10 ³ /μL)	4.64 ± 0.27	5.36 ± 0.22	5.38 ± 0.13	5.50 ± 0.12	10.34 ± 0.64**	2.76 ± 0.17**
FEMALE						
n	10	10	10	10	10	9
Methemoglobin (% hemoglobin)	0.46 ± 0.13	1.35 ± 0.15**	1.85 ± 0.18**	1.73 ± 0.21**	2.40 ± 0.15**	3.68 ± 0.45**
Hematocrit (%)	45.7 ± 0.3	43.8 ± 0.3**	43.3 ± 0.4**	42.5 ± 0.3**	39.8 ± 0.6**	36.3 ± 0.5**
Hemoglobin (g/dL)	15.1 ± 0.1	14.4 ± 0.1**	14.3 ± 0.1**	14.8 ± 0.2**	13.7 ± 0.2**	13.0 ± 0.1**
Erythrocytes (10 ⁶ /μL)	8.33 ± 0.05	7.77 ± 0.05**	7.27 ± 0.08**	6.49 ± 0.06**	5.69 ± 0.09**	5.06 ± 0.06**
Nucleated erythrocytes (10 ³ /μL)	1.40 ± 0.54	3.10 ± 0.61	4.40 ± 0.62	7.90 ± 1.05*	22.60 ± 3.62**	24.44 ± 1.68**
Mean cell volume (fL)	55.0 ± 0.0	56.3 ± 0.2**	59.3 ± 0.2**	65.1 ± 0.2**	69.9 ± 0.3**	72.2 ± 0.2**
Mean cell hemoglobin (pg)	18.1 ± 0.1	18.5 ± 0.1	19.6 ± 0.1**	22.8 ± 0.2**	24.0 ± 0.2**	25.8 ± 0.2**
Mean cell hemoglobin concentration (g/dL)	33.1 ± 0.1	32.8 ± 0.1	33.2 ± 0.3	35.0 ± 0.2**	34.3 ± 0.2**	35.7 ± 0.3**
Leukocytes (10 ³ /μL)	4.57 ± 0.32	6.04 ± 0.22*	8.09 ± 0.28**	9.70 ± 0.55**	10.26 ± 0.78**	6.49 ± 0.39**
Segmented neutrophils (10 ³ /μL)	0.68 ± 0.08	0.86 ± 0.08	1.17 ± 0.14*	1.64 ± 0.24**	2.26 ± 0.24**	1.33 ± 0.15**
Lymphocytes (10 ³ /μL)	3.84 ± 0.27	5.14 ± 0.23*	6.81 ± 0.23**	7.99 ± 0.48**	7.93 ± 0.65**	5.13 ± 0.33**

* Significantly different (P=0.05) from the vehicle control group by Williams' or Dunnett's test

** P=0.01

^a NTP, 1989. Data are given as mean ± standard error. Statistical tests were performed on unrounded data.

3.6 Toxicité chronique

Des études de toxicité chronique ne sont disponibles que pour la 4-chloroaniline. Des rats Fischer 344 et des souris B6C3F1 ont reçu des doses de respectivement 0, 2, 6 ou 18 mg/kg/j et de 0, 3, 10 ou 30 mg/kg/j, pendant 103 semaines. Les effets observés ont été semblables à ceux rapportés pour les études de toxicité aiguë subaiguë et subchronique : méthémoglobinémie, hémolyse, hémosidérose hépatique, rénale et splénique, hyperplasie médullaire et foyers d'hématopoïèse extra médullaires, traduisant l'hémolyse et sa compensation. Méthémoglobinémie, chute de l'hémoglobine, réticulocytose, augmentation du volume globulaire et hémosidérose splénique étaient observables dès la plus faible dose (2 mg/kg/j) chez le rat (NTP, 1989).

3.7 Effets sur la reproduction et le développement

3.7.1 Données chez l'Homme

Chez l'Homme, il n'existe pas de données disponibles.

3.7.2 Données chez l'animal

Il n'y a pas d'étude disponible bien conduite des effets sur la fertilité ou des effets sur le développement des isomères para et méta de la chloroaniline.

Des rates ont reçu, par voie orale, 10, 50 ou 250 mg/kg/j de 2-chloroaniline du 6^{ème} au 15^{ème} jour de la gestation. Des signes d'intoxication ont été observés chez les mères, à partir de 50 mg/kg/j. A la plus forte dose, une augmentation des résorptions et des malformations a été observée, mais ne peut être imputée directement à la 2-chloroaniline, en raison des signes de toxicité chez les mères (ECHA 2017).

Dans l'étude comparative du NTP, des évaluations de la cytologie vaginale et de la motilité des spermatozoïdes ont été effectuées sur des rats et des souris. 10 mâles et 10 femelles aux doses de 0, 40, 80 et 160 mg/kg pc/j ont été évalués.

Chez la souris, il n'y avait pas de différences significatives dans la motilité des spermatozoïdes ou les paramètres de cytologie vaginale entre les souris mâles ou femelles par rapport aux groupes témoins.

Chez le rat et seulement avec la 3-chloroaniline, la motilité des spermatozoïdes chez les mâles du groupe traité à 160 mg/kg était significativement inférieure à celle des témoins. La diminution de la motilité des spermatozoïdes dans ce groupe pourrait être due à une réduction significative du poids corporel. En l'absence d'un effet lié à la dose chez les rats ou d'un effet similaire chez la souris, cette observation n'a pas été considérée comme biologiquement significative. Chez le rat femelle, il n'y avait pas de différences significatives dans les paramètres de cytologie vaginale entre les groupes traités par rapport au groupe témoin.

3.8 Génotoxicité

3.8.1 4-chloroaniline

Ce chapitre est issu d'une synthèse réalisée à partir de la publication de l'OMS-IPCS sur la 4-chloroaniline (OMS-IPCS, 2003).

Mutations géniques

1. Sur les bactéries

S. typhimurium TA 92, TA 94, TA 97, TA98, TA100, TA 1530, TA 1532, TA1535, TA1537, TA1538, TA 1950, TA 1975, TA 1978, G46.

Les résultats sont négatifs en absence ou en présence de système d'activation métabolique (microsome ou S9), pour toutes les souches à l'exception des souches TA98 et TA100, pour lesquelles les résultats sont négatifs sans activation métabolique et équivoques (tantôt positifs et tantôt négatifs) après activation métabolique.

La souche TA98 a donné des résultats positifs en présence de S9 provenant de rats traités à l'Aroclor 1254 ; ceci a été montré par dans l'étude de van der Bijl *et al.*, 1984); une autre étude sur cette même souche a donné des résultats équivoques obtenus par 3 laboratoires (Zeiger, 1990). Sur la souche TA100, seules deux études (sur 12) ont montré des résultats positifs obtenus en présence de S9.

Sur *Escherichia coli* WP2 *uvrA*, les résultats sont également négatifs dans différents essais en présence ou en absence de S9.

Seule la souche *Escherichia coli* WP2 pol A+, polA- donne un résultat positif pour l'altération de l'ADN en présence et en absence de S9.

2. Cellules de mammifères *in vitro*

a) Cellules de lymphomes de souris L5178Y

Test de mutations sur le gène locus Tk+/- : les résultats sont positifs en absence ou en présence de système d'activation métabolique.

Pour les cassures de l'ADN, les résultats sont négatifs (en absence de S9, non testé en présence de S9).

b) Cellules d'ovaires d'hamster chinois (CHO)

Concernant **les aberrations chromosomiques**, les résultats sont équivoques : positifs uniquement en présence de S9 pour l'étude NTP (1989) et positifs uniquement en absence de S9 (toxicité en présence de S9) pour l'étude d'Anderson *et al.* (1990).

Concernant **les échanges de chromatides sœurs**, les résultats sont positifs (+/- S9) pour l'étude NTP (1989), et faiblement positifs en l'absence d'activation et négatif après activation, mais avec de la cytotoxicité, dans l'étude d'Anderson *et al.* (1990).

Concernant les altérations et réparations de l'ADN : des tests de la synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur des hépatocytes primaires de rat, ont été positifs (avec une toxicité aux doses > 50 µg/mL) dans l'étude de Williams *et al.* (1982) et négatifs dans une seconde étude (Thompson *et al.*, 1983).

3. Système *in vivo*

Chez la *Drosophila melanogaster*, les tests de mutation et de recombinaison somatique sont positifs comme chez la souris (Souris CFLP) recevant de la 4-chloroaniline par gavage (180 mg/kg pc). Aucune augmentation de la fréquence des micronoyaux dans la moelle osseuse 24-72 h après le traitement n'a été observée (BUA, 1995 ; rapport en allemand).

Une autre étude a montré une augmentation de la fréquence des micronoyaux dans la moelle osseuse de souris B6C3F1 traitées à la plus forte dose (300 mg /kg pc) (plusieurs doses testées (0, 25, 50, 100, 200, ou 300 mg 4-chloroaniline/kg pc, 3 fois toutes les 24 h) comparée aux souris non traitées (NTP, rapport non publié, communication to final Review Bord Meeting, 2001).

Adduits aux macromolécules

Une étude non citée dans le rapport de l'IPCS, sur des rats traités à la 4-chloroaniline par gavage a montré que ce composé ne forme pas d'adduit à l'ADN de d'hépatocytes (24 h après le traitement) (Jones et Sabbioni, 2003). De même, dans un système acellulaire, aucune formation d'adduit à l'ADN de thymus de veau traité à la 4-chloroaniline *in vitro* n'a été observée.

En revanche la liaison covalente aux protéines du foie et du rein a été montrée chez le rat (Dial *et al.*, 1998). Des adduits à l'hémoglobine ont été détectés chez l'Homme (cas d'exposition accidentelle en milieu professionnel) et chez le rat exposé à la 4-chloroaniline. Ce composé présente un fort potentiel de liaison covalente à l'hémoglobine. Le métabolite actif responsable de la liaison covalente est le 4-chloronitrosobenzène présent dans les érythrocytes. Un polymorphisme génétique de la N-acétyltransférase, enzyme impliquée dans la voie de conjugaison des métabolites de la 4-chloroaniline chez l'Homme (« acétylateur lent » et « acétylateur rapide ») pourrait expliquer la différence de formation des adduits à l'hémoglobine chez les sujets exposés (plus fort potentiel à former des adduits à l'hémoglobine chez les acétylateurs lents que chez les rapides).

Autres tests : levures et Champignons

- Sur *Saccharomyces cerevisiae* D3, les résultats sont négatifs pour les recombinaisons mitotiques (avec ou sans S9).
- Sur *Aspergillus Nidulans* : la 4-chloroaniline induit des mutations géniques.

Résumé de la synthèse de l'IPCS

Les résultats des études de mutagenèse de la 4-chloroaniline sur les bactéries sont contradictoires. Ils sont négatifs pour la plupart sur les souches de bactéries *Salmonella* et *Escherichia coli* (sauf pour quelques études sur TA98 et TA100 en présence de S9). La 4-chloroaniline induit des altérations de l'ADN dans la souche *Escherichia coli* WP2 pol A⁺, pol A⁻ en présence et en absence de S9. Elle a induit des mutations géniques chez les levures mais pas de recombinaison mitotique sur les champignons. Il induit des mutations au niveau du gène *Tk*^{+/−} dans les cellules de lymphomes de souris mais pas de cassure de l'ADN. Une synthèse non programmée de l'ADN (résultant d'altérations et réparations de l'ADN) dans des hépatocytes primaires de rat est observée dans une étude mais pas dans une autre. Sur les CHO, les résultats sont équivoques pour les aberrations chromosomiques et sont positifs pour les échanges de chromatides sœurs montrés par deux études dont une a signalé une cytotoxicité. Il n'y a pas d'aduit à l'ADN formé dans le foie de rats exposés à la 4-chloroaniline par gavage (montré par une étude comparant l'exposition à d'autres amines aromatiques).

En conclusion, certains tests positifs *in vitro* suggèrent que la 4-chloroaniline pourrait être génotoxique, mais les résultats sont contradictoires pour un même système (tests de mutagenicité sur salmonelles, aberrations chromosomiques, échanges entre chromatides sœurs). Les résultats issus des études *in vivo*, peu nombreuses, issus des études sur les micronoyaux (chez la souris *in vivo*, positives uniquement à la plus forte dose, c'est-à-dire proche de la DL₅₀) et l'absence d'aduit à l'ADN (mais la présence d'aduit à l'hémoglobine) dans le foie de rats exposé à la 4-chloroaniline, conduisent à conclure que les preuves que la 4-chloroaniline est un composé génotoxique direct sont faibles. **Elle peut donc être considérée comme un composé dont les effets sont à seuil de dose.**

3.8.2 2 et 3-chloroaniline

Seule la 3-chloroaniline a été testée pour l'induction de lésions chromosomiques dans des cellules ovariennes de hamster chinois en culture, et les résultats sont positifs. Cependant, la 3-chloroaniline n'a pas induit de micronoyaux dans les érythrocytes de la moelle osseuse de rats ou de souris après une injection intrapéritonéale ou une administration par gavage. En revanche, la 2-chloroaniline était positive pour l'induction de micronoyaux chez le rat, mais pas chez la souris. **Ainsi, ni la 3-chloroaniline ni la 2-chloroaniline ne présente d'activité mutagène.**

Le CES VSR considère les isomères de la chloroaniline (2-, 3- et 4-chloroaniline) comme des substances non génotoxiques.

3.9 Cancérogénicité

Le CIRC a classé la 4-chloroaniline en « 2B » (peut être cancérogène pour l'Homme) (CIRC, 1993) sur la base de preuves insuffisantes chez l'Homme et suffisantes chez l'animal.

Le National Cancer Institute (NCI, 1979) a mené des études de cancérogénicité de la 4-chloroaniline et le National Toxicology Program (NTP, 1989) a réalisé des études de cancérogénicité de son chlorhydrate.

Dans l'étude de cancérogénicité de la 4-chloroaniline menée par le National Cancer Institute (NCI, 1979), des groupes de 50 rats F344 / N et de souris B6C3F1 des deux sexes ont reçu de la 4-chloroaniline pendant 78 semaines. Les rats ont été nourris avec des aliments contenant 250 ou 500 mg/kg de 4-chloroaniline pendant 78 semaines, suivies d'une période d'observation de 24 semaines. Les souris ont été nourries avec des aliments contenant 2500 ou 5000 mg/kg de 4-chloroaniline pendant 78 semaines, suivies d'une période d'observation de 13 semaines.

Le NCI (1979) a rapporté une relation significative entre les doses d'exposition et l'incidence des tumeurs spléniques, y compris les fibromes, les fibrosarcomes, les sarcomes, les hémangiosarcomes et les ostéosarcomes chez les rats mâles (Tableau 7).

Tableau 7 : Tumeurs observées durant l'étude de cancérogénicité chez le rat et la souris (NCI, 1979)

Sex, strain, species	Tumor site and first occurrence	Administered dose (mg/kg)	Average daily dose ¹ (mg/kg-day)	Tumor incidence ²	Statistical significance ³
Male F344/N rats	Fibromas, fibrosarcomas, hemangiosarcomas, osteosarcomas or sarcomas of spleen (week 74)	0	0	0/20	p=0.001 ⁴
		250	7.65	0/49	NS
		500	15.3	10/49	p = 0.024
Male B6C3F1 mice	Hemangiosarcomas or hemangiomas of all sites (week 72)	0	0	2/20	p = 0.046 ⁵
		2500	257	10/50	NS
		5000	514	14/50	p = 0.092
Female B6C3F1 mice	Hemangiosarcomas or hemangiomas of all sites (week 89)	0	0	0/18	p = 0.012 ⁴
		2500	279	3/49	NS
		5000	557	8/42	p = 0.046

¹ The average daily dose was calculated from ppm or mg/kg in the diet, as described in Appendix.

² The denominator represents the number of animals alive at the first occurrence of tumor at that site.

³ p-values from pairwise comparison with controls (Fisher Exact Test). NS is not significant.

⁴ Cochran-Armitage trend test p-values, as reported by NCI (1979).

⁵ Cochran-Armitage trend test p-values calculated by OEHHA.

Note : la valeur de p assignée au groupe contrôle correspond aux résultats du test de tendance

Dans l'étude de cancérogénicité du chlorhydrate de 4-chloroaniline (NTP, 1989), des groupes de 50 rats et souris mâles et femelles ont reçu du chlorhydrate de 4-chloroaniline par gavage pendant cinq jours par semaine pendant 103 semaines. Les doses administrées aux rats étaient de 0, 2, 6 ou 18 mg/kg/j. Les doses administrées aux souris étaient de 0, 3, 10 ou 30 mg/kg/j.

Selon les conclusions du NTP, Il y avait des preuves claires de cancérogénicité chez le rat mâle et des preuves équivoques chez le rat femelle (augmentation du nombre de sarcomes rares de la rate). L'incidence des phéochromocytomes semble également être associée au traitement par la 4-chloroaniline. Une fibrose splénique liée au composé a été observée chez des rats mâles et femelles. Il y a des preuves de cancérogénicité chez la souris mâle (une incidence accrue de néoplasmes hépatocellulaires (adénomes et carcinomes) et d'hémangiosarcomes de la rate et du foie). Il n'y a aucune preuve d'activité cancérogène chez les souris femelles B6C3F1 traitées avec de la 4-chloroaniline pendant 2 ans (Tableau 8).

Tableau 8 : Tumeurs observées durant l'étude de cancérogénicité chez le rat et la souris (NTP, 1989)

Sex, strain, species	Tumor site and first occurrence	Administered dose (mg/kg)	Average daily dose ¹ (mg/kg-day)	Tumor incidence ²	Statistical significance ³
Male F344/N rats	Spleen sarcomas (day 494)	0	0	0/44	p < 0.001 ⁴
		2	1.41	1/49	NS
		6	4.24	3/46	NS
		18	12.7	38/48	p < 0.0001
	Adrenal gland pheochromocytomas (day 476)	0	0	13/44	p = 0.0015 ⁴
		2	1.41	14/48	NS
		6	4.24	15/46	NS
		18	12.7	26/47	p = 0.011
Male B6C3F ₁ mice	Hemangiosarcomas of the liver and the spleen (day 399)	0	0	4/50	p = 0.011 ⁴
		3	2.12	4/49	NS
		10	7.07	1/50	NS
		30	21.2	10/50	p = 0.074
	Hepatocellular adenomas and carcinomas (day 432)	0	0	11/50	p = 0.092 ⁴
		3	2.12	21/47	p = 0.015
		10	7.07	20/48	p = 0.030
		30	21.2	21/49	p = 0.022

¹ The average daily dose was calculated as described in the Appendix.

² The denominator represents the number of animals alive at the time of the first occurrence of the tumor at that site.

³ p-values from pairwise comparison with controls (Fisher Exact Test). NS is not significant.

⁴ Exact trend test p-values.

En conclusion, par voie orale, les études du NCI et du NTP montrent l'induction:

- Des tumeurs rares de la rate et du foie (fibrosarcome, angiosarcomes et hémangiosarcomes) chez le rat mâle typiques des effets de l'exposition à des agents hémolyants, après administration dans l'alimentation ou par gavage et chez les souris des 2 sexes après administration par gavage ;
- Des adénomes et des adénocarcinomes hépatocellulaires chez la souris mâle après administration par gavage.

3.10 Mécanismes d'action

Un ou des métabolites de la chloroaniline, quel que soit l'isomère, est capable de produire une dénaturation oxydative de l'hémoglobine (dans le cas de la 4-chloroaniline, il s'agit probablement de la 4-chlorohydroxylamine et du 4-chloronitrobenzène) : il oxyde le fer ferreux en fer ferrique, transformant l'oxyhémoglobine en méthémoglobine, incapable de transporter l'oxygène ; parallèlement, il dénature l'hémoprotéine, ce qui produit la sulfhémoglobine. Cette dénaturation de l'hémoglobine en sulfhémoglobine, contrairement à la production de méthémoglobine n'est pas réversible. Des granules de cette hémoglobine dénaturée se fixent sur la face interne de la membrane érythrocytaire qu'ils déforment : ce sont les corps de Heinz. Ces hématies déformées sont captées par les macrophages spléniques et hépatiques où elles sont détruites. Quand le processus est durable, les dépôts d'hémossidérine hépatiques et rénaux qui en résultent, sont à

l'origine des tumeurs induites dans ces organes, le fer ferrique induisant la production d'espèces réactives de l'oxygène et de radicaux libres.

La 2-, 3- et 4-chloroaniline sont tous les 3 hématotoxiques et leurs effets sont identiques chez le rat et la souris, la 4-chloroaniline étant l'isomère le plus documenté des trois.

3.11 Extrapolation de l'animal à l'Homme

Les quelques cas publiés d'intoxication aiguë par la 4-chloroaniline indiquent que ses effets méthémoglobinisants et hémolysants sont extrapolables à l'espèce humaine. Une étude *in vitro*, indique que la sensibilité des hématies humaines aux effets méthémoglobinisants est voisine de celle des hématies du singe, inférieure à celle des hématies canines et supérieures à celles des hématies de rat (OMS-IPCS, 2003).

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

Aucune VTR par inhalation n'est disponible pour les isomères de la chloroaniline.

Par voie orale, seules des VTR chroniques (seuil et sans seuil) sont disponibles pour la 4-chloroaniline (Tableau 9).

Tableau 9 : VTR chronique à seuil et sans seuil par voie orale pour la p- chloroaniline

Organisme	VTR chronique à seuil		VTR chronique sans seuil
	US EPA	OMS	OEHHA
Année	1988	2003	2010
VTR	RfD	DJA	ERU
Valeur VTR	4.10^{-3} mg/kg/j	2.10^{-3} mg/kg/j	$0,48.10^{-5}$ (mg/kg/jour) ⁻¹
Effet critique	Lésions de la rate non néoplasiques	Augmentation de la méthémoglobinémie	Augmentation des incidences de tumeurs multi site
Espèce	Rat	rat	rat
Voie d'exposition	gavage	gavage	gavage
Dose critique	LOAEL = 12,5 mg/kg/j	LOAEL = 2 mg/kg/j	
Ajustements	NOAEC _{ADJ} = 6,4 mg.m ⁻³		
UF	3000 UF _A = 10 UF _H = 10 UF _L =10 UF _D =3	1000 UF _A = 10 UF _H = 10 UF _L =10	
Référence	NCI (1979)	NTP (1998)	NTP (1989)

Il n'existe pas de VTR par voie orale ou respiratoire pour la 2- et la 3- chloraniline, ni pour la 2,5-dichloroaniline.

5 Proposition de VTR aiguë, subchronique et chronique

5.1 Choix de l'effet critique

Les isomères de chloroaniline sont hématotoxiques et plus particulièrement, il a été montré chez le rat et la souris une augmentation dose-dépendante de la méthémoglobinémie et un effet hémolysant, entraînant la formation de dépôts d'hémosidérine dans le foie, la rate et les reins. L'effet méthémoglobinisant est l'effet critique : les études expérimentales disponibles indiquent que c'est celui qui apparaît aux doses testées les plus faibles, quelle que soit la durée d'exposition aiguë, subchronique, et chronique.

Le CES considère l'hématotoxicité (augmentation de la méthémoglobinémie) comme effet critique pour les 3 isomères de la chloroaniline et quelle que soit la durée d'exposition (aiguë, subchronique, et chronique).

5.2 Analyse des VTR existantes

Aucune VTR par inhalation n'est disponible.

L'OMS et l'US EPA ont proposé des VTR chroniques par voie orale. L'OMS propose une valeur de $2 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j basée sur l'hématotoxicité chez le rat (augmentation de la méthémoglobinémie) avec un LOAEL de 2 mg/kg/j. L'US EPA propose une valeur de $4 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j basée sur l'apparition de lésions non néoplasiques de la rate chez le rat avec un LOAEL de 12,5 mg/kg/j.

Le CES n'a pas souhaité retenir les VTR de l'OMS et l'US EPA car, même si les effets sur la rate et sur l'hématotoxicité sont considérés comme des effets pertinents, leur construction ne suit pas les recommandations de l'Anses (construction de benchmark dose, ajustement allométrique).

Le CES n'a pas souhaité retenir la VTR sans seuil de l'OEHA, car le CES a retenu un mécanisme à seuil de dose.

En conclusion, le CES ne retient aucune des VTR proposées par les organismes et décide de construire des VTR aiguë, subchronique et chronique à seuil pour les voies orale et respiratoire.

5.3 Construction des VTR aiguës

5.3.1 VTR aiguës pour la 2- et la 3-chloroaniline

5.3.1.1 Choix de l'étude clé

Aucune étude par voie respiratoire n'est disponible. Par voie orale, les études du NTP (1998 et 1989) concernant les isomères de la chloroaniline décrites sont de qualité suffisante pour être considérées comme études clés.

Pour rappel, en 1998, le NTP a réalisé des études comparatives jusqu'à 13 semaines sur la 2- et la 3-chloroaniline chez le rat Fisher (10 rats mâles et 10 femelles) et chez la souris B6C3F1 à des doses de 0, 10, 20, 40, 80 ou 160 mg/kg pc/j administrées par gavage. En 1989, le NTP a réalisé une étude de cancérogénicité sur la 4-chloroaniline chez le rat Fisher et chez la souris B6C3F1 (50/sexe/espèce), les doses étaient de 0, 5, 10, 20, 40 et 80 mg/kg pc/j pour les rats et de 0, 7,5, 15, 30, 60 et 120 mg/kg pc/j pour les souris.

5.3.1.2 Choix de la dose critique

Les données de l'étude 13 semaines du NTP (1998) permettent d'identifier des doses critiques basées sur l'augmentation de la méthémoglobulinémie pour des expositions aiguës et subchroniques (Tableau 7 et Tableau 8).

Le Tableau 10 résume les doses critiques pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline construites pour des expositions aiguës (mesure de l'augmentation de la méthémoglobulinémie) après 3 jours d'exposition.

L'augmentation de la méthémoglobulinémie a pu être modélisée à l'aide des modèles mathématiques utilisés par le logiciel Proast (Proast software version 64.16) élaboré par le RIVM en collaboration avec l'EFSA afin d'établir une Benchmark dose (BMD). S'agissant d'une variable continue (mesure d'une variable biologique), l'une des principales difficultés lors de la construction d'une BMDL concerne le choix de la BMR (Benchmark Response level), c'est-à-dire le choix de la modification maximale tolérée comme étant physiologique (ou non néfaste) pour le paramètre étudié.

Selon les recommandations de l'EFSA (EFSA, 2016) (pour un effet critique portant sur l'augmentation et/ou la diminution d'une donnée continue), un BMR de 5% par défaut est préconisé pour les données continues. Ainsi, le CES a choisi de retenir comme BMR une augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin.

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

Tableau 10 : Doses critiques calculées en mg/kg pc/j associées à une augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 2- et la 3-chloroaniline construites pour des expositions aiguës (3 jours)

Isomère	Espèce	Sexe	BMDL	BMDU	BMD
2-chloroaniline	Rat Fisher	mâle	14,2	36,3	20
		femelle	8,97	13,4	11,0
	Souris B6C3F1	mâle	ND	ND	ND
		femelle	ND	ND	ND
3-chloroaniline	Rat Fisher	mâle	1,87	2,96	2,4
		femelle	1,37	1,84	1,6
	Souris B6C3F1	mâle	ND	ND	ND
		femelle	ND	ND	ND

ND : non disponible ; BMD : benchmark dose ; BMDL : limite inférieure de l'intervalle à 90% de la benchmark dose ; BMDU : limite supérieure de l'intervalle à 90% de la benchmark dose

Dans le cas de la 2-chloroaniline, le CES a choisi la valeur la plus faible (déterminée chez le rat femelle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill) (figure 1). Les valeurs des BMD (ou CED pour critical effect dose) et BMDL (ou CEDL) sont respectivement de 11 et de 8,97 mg/kg pc/j.

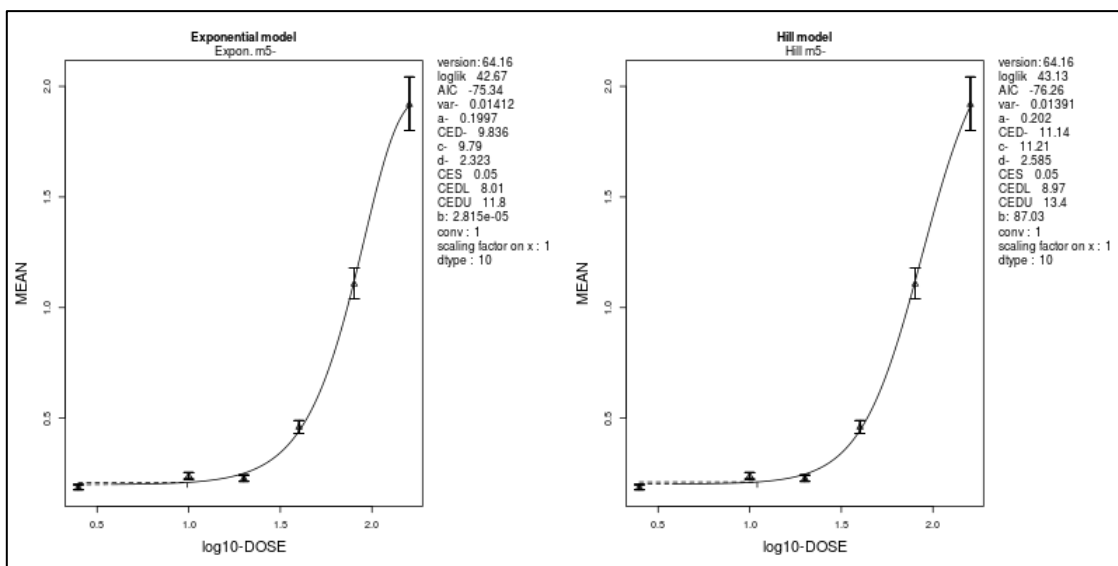


Figure 1 : Modélisation de l'augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie par rapport au groupe témoin pour la 2-chloroaniline pour une exposition aiguë

Dans le cas de la 3-chloroaniline, le CES a choisi la valeur la plus faible (déterminée chez le rat femelle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill) (figure 2). Les valeurs des BMD (ou CED) et BMDL (ou CEDL) sont respectivement de 1,6 et de 1,37 mg/kg pc/j.

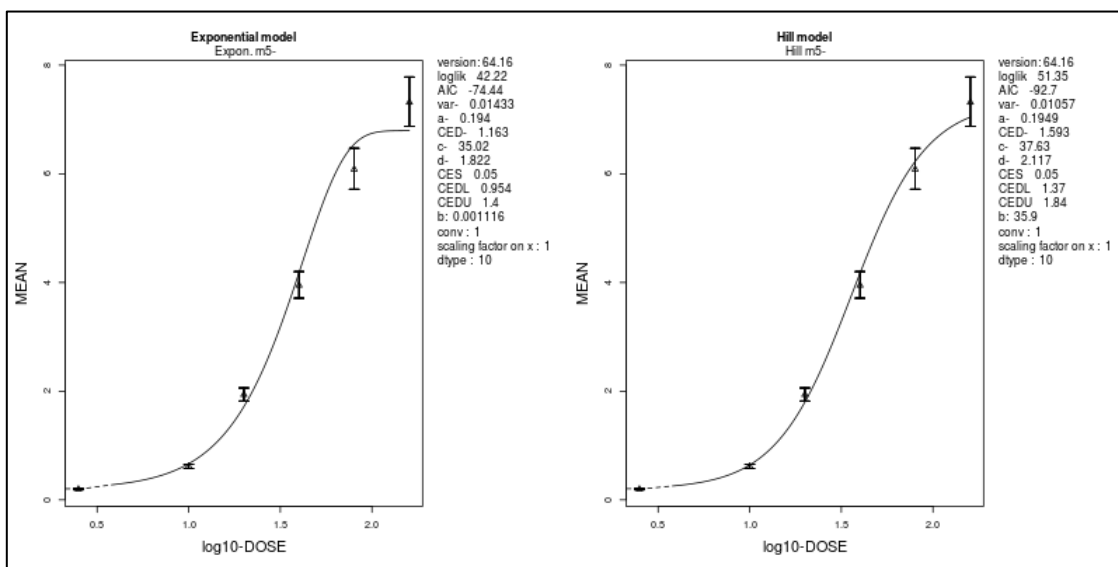


Figure 2 : Modélisation d'augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie par rapport au groupe témoin pour la 3-chloroaniline pour une exposition aiguë

5.3.1.3 Ajustement allométrique

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante (US EPA, 2006 cité dans Anses, 2017) :

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

Le poids moyen des rats femelles est de 124 g dans l'étude portant sur la 2- et la 3-chloroaniline. Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique :

- **pour la 2-chloroaniline : $BMD_{5\%L_{90\% HED}} = 1,83 \text{ mg/kg pc/j}$**
- **pour la 3-chloroaniline : $BMD_{5\%L_{90\% HED}} = 0,28 \text{ mg/kg pc/j}$**

5.3.1.4 Extrapolation voie à voie pour la construction de la VTR pour la voie respiratoire

En l'absence d'étude par voie respiratoire, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR aiguë pour la voie respiratoire à partir de l'étude du NTP (1998).

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale¹ et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique ($BMC_{5\%L_{90\% HED}}$) en utilisant un volume d'air respiré sur 24 h de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$BMC_{5\%L_{90\% HED}} = BMD_{5\%L_{90\% HED}} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3$$

Soit une concentration critique :

- **pour la 2-chloroaniline: $BMC_{5\%L_{90\% HED}} = 6,4 \text{ mg/m}^3$**
- **pour la 3-chloroaniline : $BMC_{5\%L_{90\% HED}} = 0,98 \text{ mg/m}^3$**

5.3.1.5 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul des VTR de la 2- et 3-chloroaniline a été effectué en appliquant les 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 de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et des incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS (IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).
- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10. Aucune donnée scientifique n'étant disponible pour permettre de réduire la valeur par défaut, la valeur de 10 est utilisée.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction des VTR aiguës.

¹ Les données de toxicocinétiques sur la 4-chloroaniline ont montré que ce composé était totalement absorbé par la voie orale.

5.3.1.6 Proposition de VTR aiguës par voie orale pour la 2- et la 3-chloroaniline et niveau de confiance

Tableau 11 : VTR aiguë pour la voie orale de la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline

	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 8,97 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 1,83 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	73 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 1,37 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 0,28 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	11,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen

Le niveau de confiance global a été attribué à ces VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **moyen**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait des études de toxicité subaiguë pour les isomères ortho et méta de la chloroaniline (2-chloroaniline et 3-chloroaniline) pour la voie orale.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet (augmentation de la méthémoglobémie) est bien décrit dans toutes les études de toxicité aiguë de tous les isomères de la chloroaniline.
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **fort**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique : **Fort**. Des BMD ont pu être construites.

5.3.1.7 Proposition de VTR aiguës par voie respiratoire pour la 2- et la 3-chloroaniline et niveau de confiance

Tableau 12 : VTR aiguë pour la voie respiratoire de la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline

	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 8,97 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 1,83 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	256 µg/m ³
		<u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 6,4 mg/m ³		Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 1,37 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 0,28 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	39,2 µg/m ³
		<u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,98 mg.m ⁻³		Niveau de confiance : moyen

Le niveau de confiance global a été attribué à ces VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **Faible**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il n'existait que peu ou pas d'études de la toxicité subaiguë pour la 2- et la 3-chloroaniline par voie respiratoire ce qui a conduit à réaliser une extrapolation voie à voie.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet (augmentation de la méthémoglobémie) est bien décrit par les NTP et retrouvé avec l'aniline dans toutes les études de toxicité aiguë de tous les isomères de la chloroaniline
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **fort**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la concentration critique : **Fort**. Des BMD ont pu être construites.

5.3.2 VR aiguës pour la 4-chloroaniline

Le NTP (1989) a réalisé, en amont de son étude de cancérogénèse, des études 16 jours et 13 semaines chez le rat Fisher et la souris B6C3F1 (voie orale). Ces études permettent de déterminer la plage de doses à tester pour l'étude de cancérogénèse. Cependant les données relatives à l'étude 16 jours ne sont pas disponibles sous forme chiffrée.

Les données concernant les effets sur les expositions aiguës n'étant pas détaillées dans l'étude du NTP (1989), le CES a choisi la valeur la plus faible parmi les valeurs déterminées pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline, c'est-à-dire la VTR de la 3-chloroaniline qui est de 11,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 39,2 µg/m³ pour la VTR respiratoire. Ces valeurs correspondent à des VTi.

Une valeur toxicologique indicative (VTi) est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi un niveau de confiance faible.

5.3.3 VR aiguës pour la 2,5-dichloroaniline

Il n'existe aucune étude concernant les effets liés aux expositions aiguës, le CES a choisi la dose critique la plus faible parmi les valeurs déterminées pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline. ,

c'est-à-dire la VTR de la 3-chloroaniline qui est de 11,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 39,2 µg/m³ pour la VTR respiratoire. Ces valeurs correspondent à des VTi.

5.4 Construction des VTR subchroniques

5.4.1 VTR subchroniques pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline

5.4.1.1 Choix de l'étude clé et de la dose critique

Aucune étude par voie respiratoire n'est disponible. Par voie orale, les études du NTP (1998 et 1989) concernant les isomères de la chloroaniline sont de qualité suffisante pour être considérées comme études clés.

Le Tableau 13 résume les doses critiques calculées pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline construites pour des expositions subchroniques (mesure de l'effet, à savoir une augmentation de la méthémoglobinémie) après 13 semaines d'exposition par gavage (Tableau 3 à Tableau 5).

Tableau 13 : Doses critiques calculées en mg/kg pc/j associées à une augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie par rapport au groupe témoin pour la 2-, la 3- et la 4-chloroaniline construites pour des expositions subchroniques (13 semaines)

Isomère	Espèce	Sexe	BMDL	BMDU	BMD
2-chloroaniline	Rat Fischer	mâle	1,5	2,27	1,9
		femelle	2,52	3,28	2,9
	Souris B6C3F1	mâle	2,08	3,62	2,8
		femelle	2,02	3,85	2,7
3-chloroaniline	Rat Fischer	mâle	0,56	0,74	0,65
		femelle	0,36*	0,51	0,43
	Souris B6C3F1	mâle	4,09	6,09	5,0
		femelle	2,93	3,95	3,4
4-chloroaniline	Rat Fischer	mâle	-	-	-
		femelle	-	-	-
	Souris B6C3F1	mâle	-	-	-
		femelle	4,14	4,67	4,4

-, non modélisable ; BMD : benchmark dose ; BMDL : limite inférieure de l'intervalle à 90% de la benchmark dose ; BMDU : limite supérieure de l'intervalle à 90% de la benchmark dose

* La relation entre la dose de 3-chloroaniline et l'augmentation de la méthémoglobinémie chez les femelles a fourni une valeur de BMDL de 0,36 mg/kg/j. Cependant, selon l'arbre décisionnel de l'EFSA et du software utilisé, il est apparu que l'AIC du modèle qui s'ajustait au mieux aux données expérimentales était inférieur de 2 unités à l'AIC du « full model » ce qui ajoute de l'incertitude dans la modélisation chez les femelles. Ainsi, le CES n'a pas retenue cette valeur du fait de l'incertitude dans sa détermination, et a choisi la BMDL calculée chez le rat mâle.

Dans le cas de la 2-chloroaniline, le CES a choisi la valeur la plus faible (déterminée chez le rat mâle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill) (figure 3). Les valeurs des BMD (ou CED) et BMDL (ou CEDL) sont respectivement de 1,9 et de 1,5 mg/kg/j.

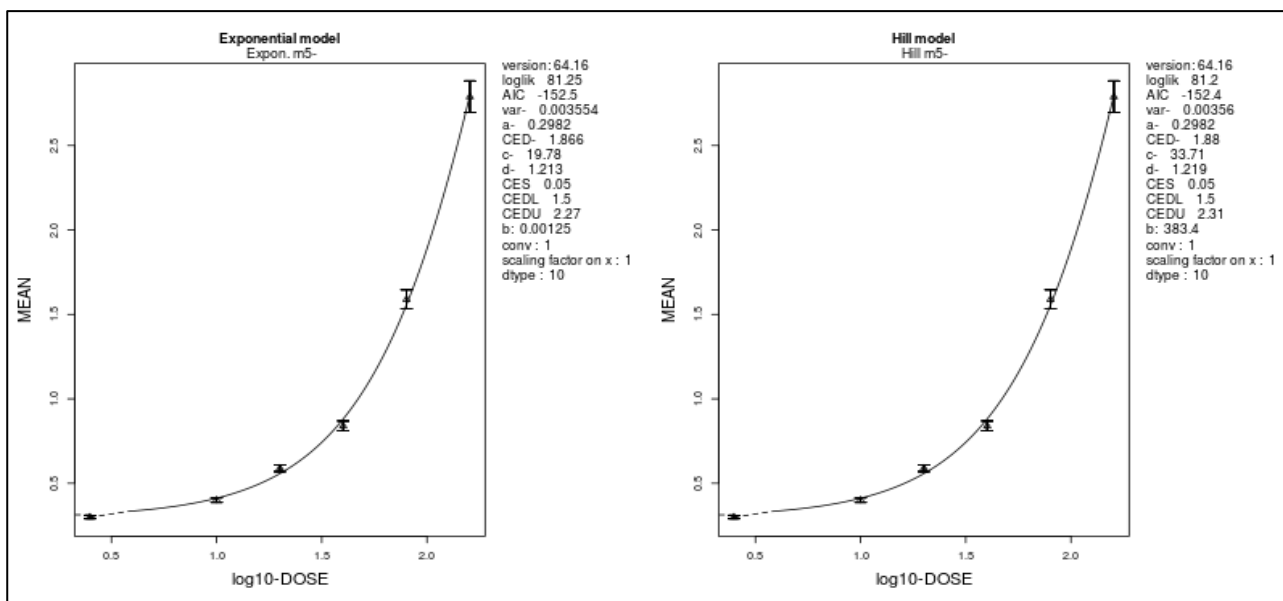


Figure 3 : Modélisation d'augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 2-chloroaniline pour une exposition subchronique par gavage

Dans le cas de la 3-chloroaniline, le CES a choisi la valeur la plus faible (déterminée chez le rat mâle) et celle établie par le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales (modèle de Hill) (figure 4). Les valeurs des BMD (ou CED) et BMDL (ou CEDL) sont respectivement de 0,65 et de 0,56 mg/kg/j.

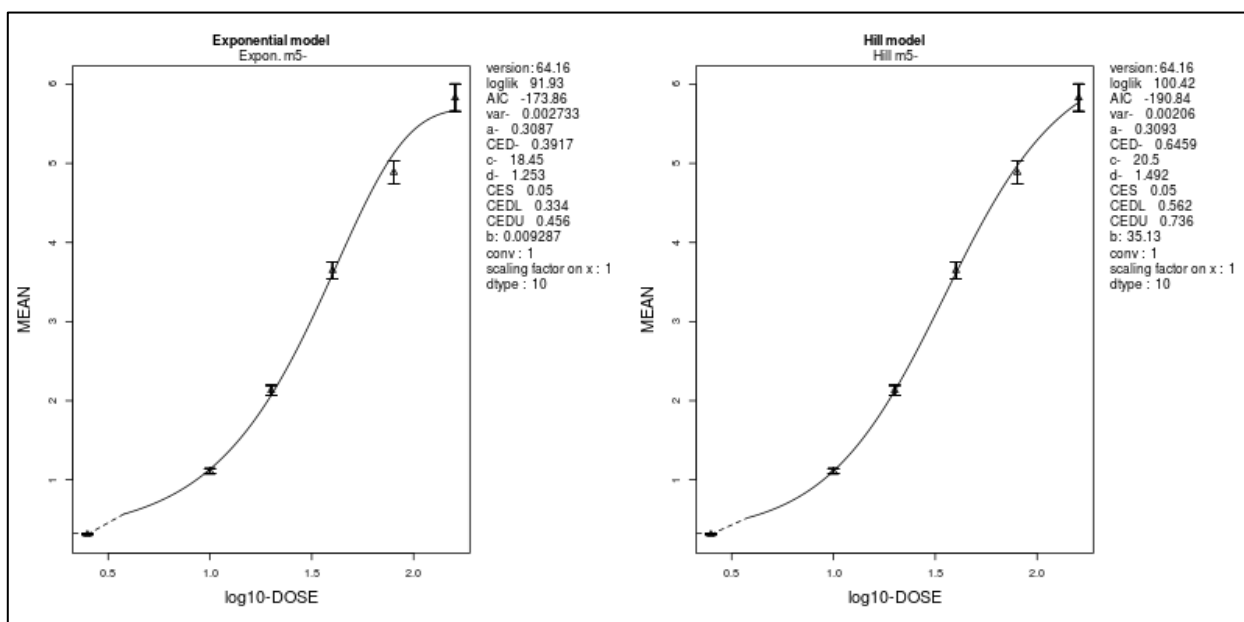


Figure 4 : Modélisation d'augmentation de 5 % de la méthémoglobulinémie par rapport au groupe témoin pour la 3-chloroaniline pour une exposition subchronique par gavage.

Dans le cas de la 4-chloroaniline, le CES n'a pas pu construire de BMD (à l'exception de la modélisation chez la souris femelles). Selon les résultats présentés dans le Tableau 5, le NTP montre une augmentation statistiquement significative chez le rat mâle et femelle à la première dose testée, soit 5 mg/kg/j. Le CES a considéré cette valeur comme un LOAEL (NTP, 1989).

5.4.1.2 Ajustement allométrique

Pour réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante (Anses, 2017) :

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

Le poids moyen des rats correspondant au poids des mâles à 13 semaines est de 326 g, 321 g et de 334 g dans les études portant respectivement sur la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline. Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique :

- pour la 2-chloroaniline : **BMD_{5%}L_{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j**
- pour la 3-chloroaniline : **BMD_{5%}L_{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j**
- pour la 4-chloroaniline : **LOAEL_{HED} = 1,31 mg/kg pc/j**

5.4.1.3 Extrapolation voie à voie pour les VTR pour la voie respiratoire

En l'absence d'étude par voie respiratoire, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR subchronique par voie respiratoire à partir des études du NTP (1989 et 1998).

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique (BMC_{5%}L_{90%}HEC) en utilisant un volume d'air respiré sur 24 h de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$\text{BMC}_{5\%}\text{L}_{90\%}\text{HEC} = \text{BMD}_{5\%}\text{L}_{90\%}\text{HED} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3$$

Soit une concentration critique :

- pour la 2-chloroaniline: **BMC_{5%}L_{90%} HEC = 1,4 mg/m³**
- pour la 3-chloroaniline : **BMC_{5%}L_{90%} HEC = 0,5 mg/m³**
- pour la 4-chloroaniline : **LOAEC_{HEC} = 4,6 mg/m³**

5.4.1.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR des 3 isomères de la chloroaniline a été effectué en appliquant les 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 de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (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.
- Utilisation d'une BMDL/ LOAEL/C ou NOAEL/C (UF_L) : **10**. Concernant la 4-chloroaniline, le CES a choisi d'appliquer un facteur d'incertitude lié à l'usage d'un LOAEL/C de 10 par défaut.

Pour la 2- et la 3-chloroaniline, un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction des VTR subchroniques.

Pour la 4-chloroaniline, un facteur d'incertitude global de 250 est utilisé pour la construction de la VTR subchronique.

5.4.1.5 Proposition de VTR subchronique par voie orale et niveau de confiance

Tableau 14 : VTR subchronique par voie orale de la 2-, 3- et la 4-chloroaniline

	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	15,6 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	6 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	Augmentation de la méthémoglobémie chez les rats mâles et femelles F344 NTP (1989) : étude de 13 semaines	LOAEL = 5 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> LOAEL _{HED} = 1,31 mg/kg pc/j	250 UF _L =10 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	5,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen

Le niveau de confiance global a été attribué à ces VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **moyen**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait des études de la toxicité subchronique pour les 3 isomères de la chloroaniline.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet critique (augmentation de la méthémoglobémie) est bien décrit dans toutes les études de toxicité subchronique des 3 isomères de la chloroaniline
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **Fort**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :
 - **Fort** pour la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline : des BMD ont pu être construites.
 - **Faible** pour la 4-chloroaniline : utilisation d'un LOAEL

5.4.1.6 Proposition de VTR subchroniques par voie respiratoire

Tableau 15 : VTR subchronique pour la voie respiratoire de la 2, 3 et 4-chloroaniline

	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	54,6 µg.m ⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1,365 mg.m ⁻³		Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMC _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	21 µg.m ⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMC _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,525 mg/m ³		Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	Augmentation de la méthémoglobémie chez les rats mâles et femelles F344 NTP (1989) : étude de 13 semaines	LOAEL = 5 mg/kg/j	250 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _L = 10	18,3 µg.m ⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL HED = 1,31 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> LOAEC HEC = 4,585 mg/m ³		Niveau de confiance : moyen

Le niveau de confiance global a été attribué à ces VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **Faible**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il n'existait que peu ou pas d'études de la toxicité subchronique des 3 isomères de la chloroaniline pour la voie respiratoire ce qui a conduit à réaliser une extrapolation voie à voie.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet critique retenu (élévation de la méthémoglobémie) est bien décrit dans toutes les études de toxicité subchronique des différents isomères de la chloroaniline
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **Fort**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la concentration critique :
 - o **Fort** pour la 2- et la 3-chloroaniline : des BMD ont pu être construites.
 - o **Faible** pour la 4-chloroaniline : utilisation d'un LOAEL

5.4.2 VR subchroniques pour la 2,5-dichloroaniline

En l'absence de données concernant les effets sur les expositions subchronique, le CES a choisi la valeur la plus faible parmi les VTR déterminées pour la 2-, la 3- et la 4-chloroaniline c'est-à-dire

la VTR de la 4-chloroaniline qui est de **5,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 18,3 µg/m³ pour la VTR respiratoire**. Ces valeurs correspondent à des VTi.

5.5 Construction des VTR chroniques

5.5.1 VTR chroniques pour la 4-chloroaniline

5.5.1.1 Choix de l'étude clé et de la dose critique

Dans l'étude de cancérogénicité (NTP, 1989), des groupes de 50 rats et souris mâles et femelles ont reçu du chlorhydrate de 4-chloroaniline par gavage pendant cinq jours par semaine pendant 103 semaines. Les doses administrées aux rats étaient de 0, 2, 6 ou 18 mg/kg/j. Les doses administrées aux souris étaient de 0, 3, 10 ou 30 mg/kg/j. Les résultats sur l'augmentation de la méthémoglobinémie chez la souris n'ont pas été examinés pour la durée d'exposition supérieure à 13 semaines.

A partir de l'étude du NTP (1989), la relation dose réponse basée sur l'augmentation de la méthémoglobinémie a été modélisée pour la 4-chloroaniline après 12, 18 et 24 mois d'exposition pour les rats mâles et femelles (Tableau 16).

Tableau 16 : Doses critiques calculées en mg/kg pc/j associées à une augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie par rapport au groupe témoin pour la 4-chloroaniline construites pour des expositions de 12, 18 et 24 mois d'expositions

Durée exposition	Rat Fisher sexe	BMDL	BMDU	BMD
12 mois	mâle	0,62	1,23	0,84
	femelle	-	-	-
18 mois	mâle	-	-	-
	femelle	0,11	0,21	0,16
24 mois	mâle	-	-	-
	femelle	-	-	-

- : non modélisable ; BMD : benchmark dose ; BMDL : limite inférieure de l'intervalle à 90% de la BMD ; BMDU : limite supérieure de l'intervalle à 90% de la BMD

Le CES a choisi la valeur (déterminée chez le rat femelle) la plus basse et issue du modèle qui s'ajustait le mieux aux données expérimentales (le modèle exponentiel) (figure 5). Les valeurs des BMD (ou CED) et BMDL (ou CEDL) sont respectivement de 0,16 et 0,11 mg/kg/j.

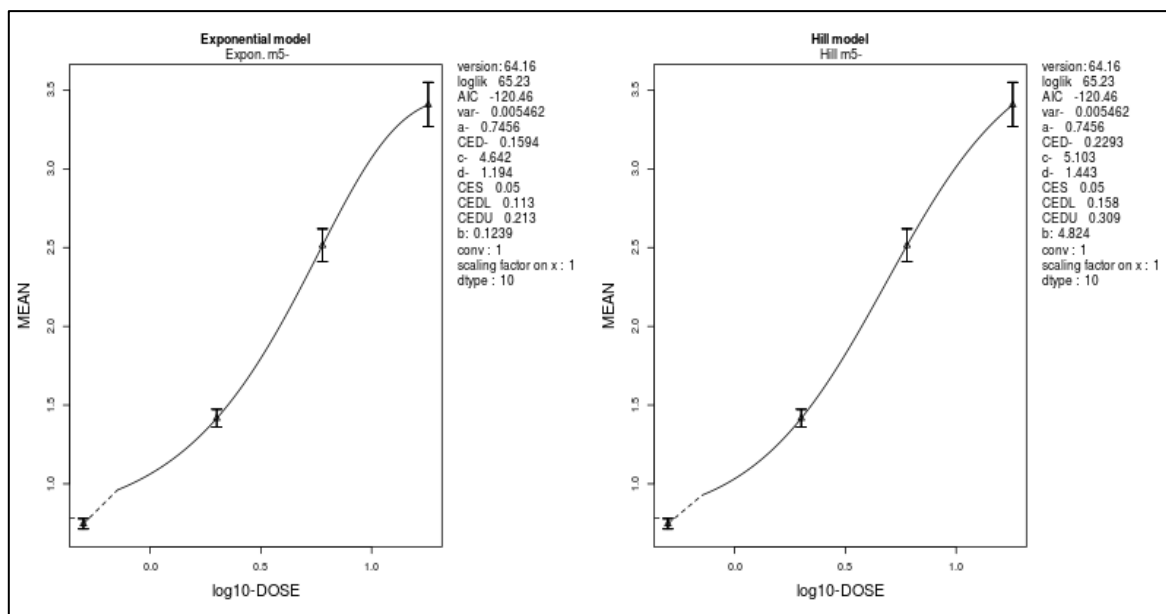


Figure 5 : Modélisation de l'augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat par rapport au groupe témoin pour la 4-chloroaniline pour une exposition chronique par gavage

A titre de comparaison, la relation entre l'augmentation des tumeurs de la rate (nombre d'animaux porteurs au moins d'une tumeur : fibrome, fibrosarcome, haémangiosarcome) et la dose journalière d'exposition à la 4-chloroaniline (Tableau 17) a été modélisée.

Les tumeurs induites par la 4-chloroaniline étant une complication de l'hémolyse (cf. §3.9).Elles surviennent pour des expositions plus fortes que celles induisant une élévation de 5 % de la méthémoglobinémie.

Tableau 17 : Relation entre doses d'exposition de 4-chloroaniline et l'incidence de tumeurs (NTP, 1989) chez le rat

		Incidence at following doses (mg/kg body weight)								
		Males				Females				
		0	2	6	18	0	2	6	18	
Spleen	Fibrosis	3/49	11/50	12/50	41/50	1/50	2/50	3/50	42/50	
	Tumours	Fibroma	0/49	0/50	0/50	2/50				
		Fibrosarcoma ^b (1)	0/49	1/50	2/50	17/50 ^c	0/50	0/50	1/50	0/50
		Osteosarcoma ^b (2)	0/49	0/50	1/50	19/50 ^c	0/50	0/50	0/50	1/50
		Haemangiosarcoma ^d (3)	0/49	0/50	0/50	4/50				
(1), (2), or (3)	0/49	1/50	3/50	36/50 ^c						
Adrenal medulla	Hyperplasia	15/49	21/48	15/48	17/49	4/50	4/50	7/50	24/50	
	Tumours	Pheochromocytoma (4)	13/49	14/48	14/48	25/49 ^c	2/50	3/50	1/50	6/50
		Malignant pheochromocytoma (5)	1/49	0/48	1/48	1/49				
(4) or (5)	13/49	14/48	15/48	26/49 ^e						
Haematopoietic system	Mononuclear cell leukaemia	21/49	3/50	2/50	3/50	10/50	2/50	1/50	1/50	
Testis	Interstitial cell adenomas	36/49	44/46 ^e	44/50	46/50 ^f					

Le modèle Probit a été retenu pour l'estimation de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 90% d'une dose correspondant à une augmentation de 10% de la réponse² par rapport au groupe non exposé (figure 6). Ce modèle s'adapte le mieux aux données expérimentales selon le critère du maximum de vraisemblance.

Les doses critiques calculées pour les effets cancérogènes sont : $BMD_{10\%} = 7,6 \text{ mg/kg pc/j}$ et $BMD_{10\%} L_{90\%} = 6,13 \text{ mg/kg pc/j}$

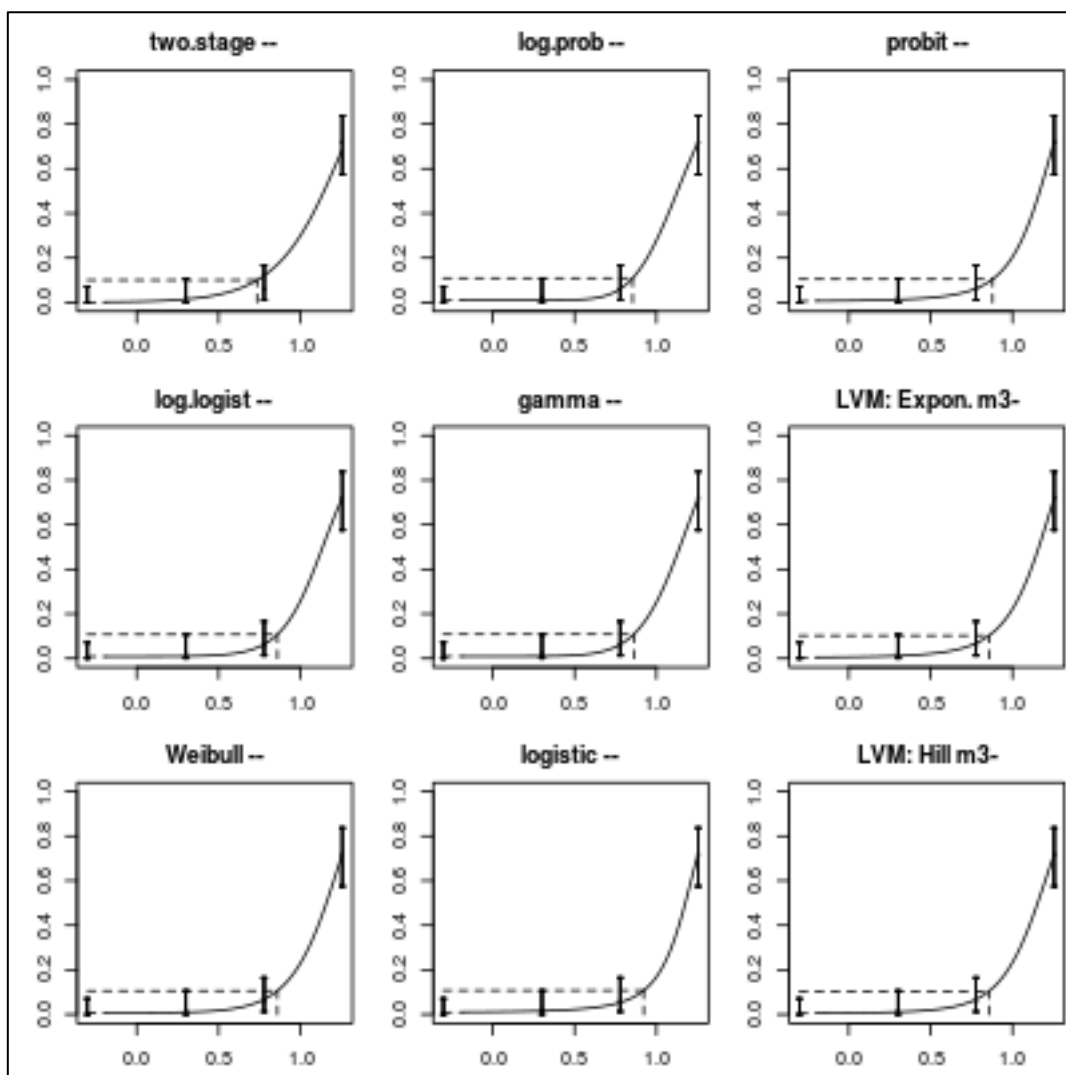


Figure 6 : Modélisation de l'augmentation de 10 % des tumeurs de la rate chez le rat mâle par rapport au groupe témoin pour la 4-chloroaniline par gavage

5.5.1.2 Ajustement allométrique

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé à partir de la dose critique ayant entraîné une augmentation de 5% de MetHb ($BMDL = 0,11 \text{ mg/kg/j}$) et a permis de calculer une dose équivalente humaine (HED = Human Equivalent Dose) à l'aide de l'équation suivante (Anses, 2017) :

² Le seuil de 10% est recommandé par l'Anses pour la construction des VTR sur des effets cancérogènes.

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

Le poids moyen des rats femelles correspondant au poids des femelles à 13 semaines est de 292 g dans l'étude sur la 4-chloroaniline. Celui utilisé pour l'Homme pour le calcul est de 70 kg.

Soit une dose critique pour la 4-chloroaniline : $\text{BMD}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HED}} = 0,03 \text{ mg/kg pc/j}$

5.5.1.3 Extrapolation voie à voie pour la VTR respiratoire

En l'absence d'étude sur la voie respiratoire, une transposition voie à voie est proposée pour construire une VTR chronique pour la voie respiratoire à partir de l'étude du NTP (1998).

Ce calcul est basé sur une hypothèse d'absorption de 100% pour la voie orale et la voie respiratoire (pour l'Homme comme pour l'animal). La dose critique établie chez l'Homme est convertie en concentration critique ($\text{BMC}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HEC}}$) en utilisant un volume d'air respiré sur 24 heures de 20 m³ pour un poids moyen de 70 kg (ECHA, 2012).

$$\text{BMC}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HEC}} = \text{BMD}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HED}} \times 70 \text{ kg}/20 \text{ m}^3$$

Soit une concentration critique pour la 4-chloroaniline : $\text{BMC}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HEC}} = 0,105 \text{ mg/m}^3$

5.5.1.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR 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 de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).
- Variabilité interindividuelle (UF_H) : **10**. Aucune donnée scientifique n'étant disponible pour permettre de réduire la valeur par défaut, la valeur de 10 est utilisée.

Un facteur d'incertitude global de 25 est donc utilisé pour la construction de la VTR chronique.

5.5.1.5 Proposition de VTR par voie orale et niveau de confiance

Tableau 18 : VTR chronique pour la voie orale de la 4-chloroaniline

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat femelle F344	$\text{BMD}_{5\%}\text{L}_{90\%} = 0,11 \text{ mg/kg/j}$	25	1,2 mg/kg pc/j
NTP (1998) : étude de 104 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> $\text{BMD}_{5\%}\text{L}_{90\% \text{ HED}} = 0,03 \text{ mg/kg pc/j}$	$\text{UF}_{A\text{-TD}} = 2,5$ $\text{UF}_H = 10$	
			Niveau de confiance : Moyen/fort

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 : **moyen**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il existait des études de la toxicité subchronique pour les 3 isomères de la chloroaniline.

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet critique (augmentation de la méthémoglobémie) est bien décrit dans toutes les études de toxicité subchronique des 3 isomères de la chloroaniline
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **Fort**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique : **Fort**: Des BMD ont pu être construites.

5.5.1.6 Proposition de VTR par voie respiratoire et niveau de confiance

Tableau 19 : VTR chronique pour la voie respiratoire de la 4-chloroaniline

Effet critique	Dose critique	UF	VTR
Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 104 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,11 mg/kg/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	4,2 µg/m ³
	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,03 mg/kg pc/j		Niveau de confiance : moyen
	<u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,105 mg/m ³		

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 : **Faible**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il n'existait que peu ou pas d'études de la toxicité schronique des 3 isomères de la chloroaniline pour la voie respiratoire ce qui a conduit à réaliser une extrapolation voie à voie.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet critique retenu (élévation de la méthémoglobémie) est bien décrit dans toutes les études de toxicité subchronique des différents isomères de la chloroaniline
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **Fort**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la concentration critique : **Fort**. Une BMD a pu être construite.

5.5.2 VTR chroniques pour la 2- et la 3-chloroaniline

Il n'existe pas d'études de toxicité chronique. Le CES a choisi de construire des VTR chroniques à partir des BMDL modélisées à partir des études subchroniques et ajustées chez l'Homme, soit 0,39 mg/kg/j pour la 2-chloroaniline et 0,15 mg/kg/j pour la 3-chloroaniline. Le calcul de la VTR 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 de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, le facteur UF_A a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'OMS-IPCS (OMS-IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses (Anses, 2017).
- Variabilité interindividuelle (UF_H) : **10**. Aucune donnée scientifique n'étant disponible pour permettre de réduire la valeur par défaut, la valeur de 10 est utilisée.
- Passage d'une durée d'exposition subchronique à chronique (UFs) : **3**. Le CES a choisi de construire des VTR chroniques à partir des études subchroniques pour ces deux composés en appliquant un UF_s de 3 pour le passage d'une durée d'exposition subchronique à chronique.

Tableau 20 : VTR chroniques pour la voie orale de la 2-chloroaniline et la 3-chloroaniline

	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	5,2 µg/kg/j
				Niveau de confiance : Faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	2 µg/kg/j
				Niveau de confiance : Faible

Le niveau de confiance global a été attribué à ces VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **Faible**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il n'existait pas d'étude de toxicité chronique des isomères ortho et méta de la chloroaniline (2-chloroaniline et 3-chloroaniline)
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet critique retenu (élévation de la méthémoglobininémie) est bien décrit dans toutes les études de toxicité subchronique des différents isomères de la chloroaniline
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **moyen**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique : **Fort**. Des BMD ont pu être construites.

Tableau 21 : VTR chronique pour la voie respiratoire de la 2 et 3-chloroaniline

	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1,365 mg.m ⁻³	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 18,2 µg/m ³
				Niveau de confiance : Faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobininémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,525 mg/m ³	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 7 µg/m ³
				Niveau de confiance : Faible

Le niveau de confiance global a été attribué à ces VTR en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : **Faible**. L'analyse bibliographique a révélé qu'il n'existait pas d'étude de toxicité chronique des isomères ortho et méta de la chloroaniline (2-chloroaniline et 3-chloroaniline) ce qui a conduit à réaliser une extrapolation voie à voie.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **Fort**. L'effet critique retenu (élévation de la méthémoglobinémie) est bien décrit dans toutes les études de toxicité subchronique des différents isomères de la chloroaniline
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **Fort**. Il s'agit d'études bien détaillées qui suivent les lignes directrices de l'OCDE.
- Niveau de confiance dans le choix de la concentration critique : **Fort**. Des BMDs ont pu être construites.

5.5.3 VR chroniques pour la 2,5-dichloroaniline

En l'absence d'étude de toxicité subchronique et chronique pour la **2,5-dichloroaniline**, le **CES a décidé de lui attribuer la valeur de la VTR la plus protectrice calculée pour les trois autres isomères**, c'est-à-dire la VTR de la 4-chloroaniline qui est de 1,2 µg/kg pc/j pour la VTR orale et de 4,2 µg/m³ pour la VTR respiratoire. Ces valeurs correspondent à des VTi.

6 Conclusions

Des VTR aiguës, subchroniques et chroniques par voies orale et respiratoire sont proposées pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline, basées sur l'augmentation de la méthémoglobinémie (Tableau 22, Tableau 23, Tableau 24). Des VTR chroniques construites sur les effets tumorigènes de la 4-chloroaniline auraient conduit à des valeurs plus élevées (donc moins protectrices) que celles construites sur l'augmentation de la méthémoglobinémie.

En l'absence d'études de toxicité aiguë pour la **4-chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline**, le **CES a décidé de leur attribuer la valeur de la VTR la plus protectrice, à savoir celle de la 3-chloroaniline (considéré comme des VTi).**

En l'absence d'étude de toxicité subchronique et chronique pour la **2,5-dichloroaniline**, le **CES a décidé de lui attribuer la valeur de la VTR la plus protectrice calculée pour les trois autres isomères (considéré comme des VTi).**

Le CES rappelle qu'une valeur toxicologique indicative (VTi) est un repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi un niveau de confiance faible.

Tableau 22 : VTR aiguës par voies orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline

Substance	Effet critique (référence)	Dose critique	UF	VTR / VTi
VOIE ORALE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 8,97 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 1,83 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 73 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,37 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,28 mg/kg pc/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 11,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 11,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 11,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : faible
VOIE RESPIRATOIRE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 8,97 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 1,83 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 6,4 mg/m ³	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 256 µg/m ³
				Niveau de confiance : Faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,37 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,28 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,98 mg.m ⁻³	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 39,2 µg.m ⁻³
				Niveau de confiance : Faible
4-chloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 39,2 µg.m ⁻³
				Niveau de confiance : faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 3-chloroaniline			VTi = 39,2 µg.m ⁻³
				Niveau de confiance : faible

Tableau 23 : VTR subchroniques par voies orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline

Substance	Effet critique	Dose critique	UF	VTR /VTi
VOIE ORALE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	25	VTR = 15,6 µg/kg pc/j
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	25	VTR = 6 µg/kg pc/j
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	Augmentation de la méthémoglobémie chez les rats mâle et femelle F344	LOAEL = 5 mg/kg/j	250 UF _L =10	VTR= 5,2 µg/kg pc/j
	NTP (1989) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL HED = 1,31 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
2,5-chloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 5,2 µg/kg pc/j Niveau de confiance : faible
VOIE RESPIRATOIRE				
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	25	VTR = 54,6 µg.m⁻³
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1,365 mg.m ⁻³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobémie chez le rat mâle F344	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	25	VTR = 21 µg.m⁻³
	NTP (1998) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,525 mg/m ³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : moyen
4-chloroaniline	Augmentation de la méthémoglobémie chez les rats mâle et femelle F344	LOAEL = 5 mg/kg/j	250 UF _L =10	VTR = 18,3 µg.m⁻³
	NTP (1989) : étude de 13 semaines	<u>Ajustement allométrique</u> LOAEL HED = 1,31 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> LOAEC HEC = 4,585 mg/m ³	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : Faible
2,5-chloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 18,3 µg.m⁻³ Niveau de confiance : faible

Tableau 24 : VTR chroniques par voies orale et respiratoire pour les 3 isomères de la chloroaniline et la 2,5-dichloroaniline

Substance	Effet critique	Dose critique	UF	VTR
VOIE ORALE				
4-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 104 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,11 mg/kg/j	25	VTR = 1,2 µg/kg pc/j
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,03 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	Niveau de confiance : Moyen/fort
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	75	VTR = 5,2 µg/kg pc/j
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance : Moyen/faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	75	VTR = 2 µg/kg pc/j
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j	UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	Niveau de confiance : Faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 1,2 µg/kg pc/j
				Niveau de confiance : Faible
VOIE RESPIRATOIRE				
4-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat femelle F344 NTP (1998) : étude de 104 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,11 mg/kg/j	25 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10	VTR = 4,2 µg.m⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,03 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,105 mg/m ³		Niveau de confiance : Moyen/faible
2-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 1,5 mg/kg/j	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 18,2 µg.m⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,39 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 1,365 mg.m ⁻³		Niveau de confiance : Faible
3-chloroaniline	Augmentation de 5 % de la méthémoglobinémie chez le rat mâle F344 NTP (1998) : étude de 13 semaines	BMD _{5%} L _{90%} = 0,56 mg/kg/j	75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3	VTR = 7 µg.m⁻³
		<u>Ajustement allométrique</u> BMD _{5%} L _{90%} HED = 0,15 mg/kg pc/j <u>Extrapolation voie à voie</u> BMC _{5%} L _{90%} HEC = 0,525 mg/m ³		Niveau de confiance : Faible
2,5-dichloroaniline	VTR de la 4-chloroaniline			VTi = 4,2 µg.m⁻³
				Niveau de confiance : Faible

Le CES a construit des VTR et VTi aiguës, subchroniques et chroniques par voie respiratoire pour la 2-chloroaniline, la 3-chloroaniline et la 4-chloroaniline, et propose des VTi pour la 2,5-chloroaniline. L'élaboration de VTR pour ces composés a été réalisée par transposition de voie à voie selon les recommandations de l'ECHA (ECHA, 2012). Il conviendra de réviser ces VTR dès que de nouvelles données pertinentes de toxicité seront disponibles.

Le CES a élaboré des VTR pour les voies orale et respiratoire pour des durées d'application aiguës, sub chronique et chronique pour les 4 isomères de la chloroaniline, et considère qu'il n'est pas pertinent de sélectionner une substance traceuse du risque parmi les 4 isomères de la chloroaniline.

Le CES recommande d'appliquer les valeurs suivantes (Tableau 25 et Tableau 26), à savoir de retenir la VTR de la 3-chloroaniline pour la 4-chloroaniline (toxicité similaire) et la 2,5-dichloroaniline (absence de donnée).

Tableau 25 : Valeur de référence pour la voie orale

Substances	N° CAS	VTR pour la voie orale en $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$ ^(a)		
		aiguë	subchronique	chronique
2-chloroaniline	95-51-2	73	16	5
3-chloroaniline	108-42-9	11	5	1
4-chloroaniline	106-47-8	11 ^(b)	5	1
2,5-chloroaniline	95-82-9	11 ^(b)	5 ^(b)	1 ^(b)

(a) Ces valeurs sont applicables à chacune des substances prises individuellement, (b) Cette valeur correspond à une VTi

Tableau 26 : Valeur de référence pour la voie respiratoire

Substances	N° CAS	VTR pour la voie respiratoire en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ ^(a)		
		aiguë	subchronique	chronique
2-chloroaniline	95-51-2	256	55	18
3-chloroaniline	108-42-9	39	18	4
4-chloroaniline	106-47-8	39 ^(b)	18	4
2,5-chloroaniline	95-82-9	39 ^(b)	18 ^(b)	4 ^(b)

(a) Ces valeurs sont applicables à chacune des substances prises individuellement ; (b) Cette valeur correspond à une VTi

En cas d'exposition à un mélange des isomères de la chloroaniline, le CES recommande d'appliquer les valeurs suivantes (Tableau 25 et Tableau 26), en respectant à défaut le principe d'additivité lié à un mélange (considérant que les isomères de chloroaniline provoquent les mêmes effets sur les mêmes tissus) (SCHER, 2012).

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : le 24/11/2017.

Signature :

Maisons-Alfort, le / /2018,

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

Dr Fabrice MICHIELS
Président du CES

7 Bibliographie

Date de fin de la bibliographie : 01/10/2017

Anderson BE, Zeiger E, Shelby MD, Resnick MA, Gulati DK, Ivett JL, Loveday KS. (1990). Chromosome aberration and sister chromatid exchange test results with 42 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16(Suppl. 18):55–137.

Anses. (2017). 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>

Bader M, Van Weyenbergh T, Verwerft E, Van Pul J, Lang S. (2014). Oberlinner C. Human biomonitoring after chemical incidents and during short-term maintenance work as a tool for exposure analysis and assessment. *Toxicol Lett*. 2014 Dec 15;231(3):328-36.

Böhme C, Grunow W. (1969). Über den Stoffwechsel von Carbamat-Herbiciden in der Ratte.1. Mitteilung. Stoffwechsel des m-Chloroanilins als Bedenstein von Chlorpropham und Barban? *Fd Cosmet Toxicol* 1969; 7: 125-133.

BUA (1993). 4-chloroaniline. BUA Report 153, GDCh-Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance.

CIRC. (1993). *Para*-chloroaniline. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Volume 57. Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of air colourants; some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines. Lyon: IARC: 437p.

Dial LD, Anestis DK, Kennedy SR, Rankin GO. (1998). Tissue distribution, subcellular localization and covalent binding of 2- chloroaniline and 4-chloroaniline in Fischer 344 rats. *Toxicology*, 131(2–3):109–119.

E.C. (1992). Updating of data concerning the impact on the aquatic environment of certain dangerous substances, second part, Part IV - Chloroanilines. Office for Official Publications of the European Communities. 1992.

EFSA. (2016). Guidance of the Scientific Committee on a request from EFSA on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. *The EFSA Journal* (2016)

ECHA. (2017). <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/14532/7/3/3>

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

Hong SK, Rankin GO. (1998). Biotransformation of 2-chloroaniline in the Fischer 344 rat: identification of urinary metabolites. *Xenobiotica* 1998; 28: 985-994.

HSDB. (2011). Hazardous Substances Data Bank.

Ichikawa Y, Yamano T, Fujishima H. (1969). Relationship between the interconversion of cytochrome P-450 and P-420 and its activities in hydroxylations and demethylations by P-450 oxidase systems. *Biochim Biophys Acta* 1969; 171: 32-46

INERIS (2011a) Normes de qualité environnementale pour la 4-chloroaniline

INERIS (2011b) Normes de qualité environnementale pour la 3- chloroaniline

INERIS (2012) Normes de qualité environnementale pour la 2-chloroaniline

Kutting B, Göen T, Schwegler U, Fromme H, Uter W, Angerer J, Drexler H. (2009). Monoarylamines in the general population. A cross-sectional population-based study including 1004 Bavarian subjects. *Int J Hyg Environ Health* 2009; 298-309.

Messmer AS, Nickel CH, Bareiss D. (2015). p-Chloroaniline poisoning causing methemoglobinemia: A case report and review of the literature. *Case Rep Emerg Med* 2015

NCI (National Cancer Institute). (1979). Bioassay of 4-chloroaniline for possible carcinogenicity (CAS No. 106-47-8). NCI technical report NCI-CG-TR-189. U.S. Department Of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health

- NTP (National Toxicology Program). (1989). Toxicology and Carcinogenesis Study of para-chloroaniline hydrochloride (CAS No. 20265-96-7) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). Technical Report Series No. 351. NIH Publication No. 89-2806. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health
- NTP (National Toxicology Program). (1998). Comparative Toxicity Studies of o-, m-, and p-chloroanilines (CAS Nos. 95-51-2; 108-42-9; and 106-47-8) Administered by Gavage to F344/N Rats and B6C3F1 Mice.
- OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment). (2010). Chloroaniline (CAS No. 106-47-8) and 4-chloroaniline hydrochloride (CAS No. 20265-96-7) February 2010
- OMS-IPCS. (2003). Concise International Chemical Assessment Document on 4-Chloroaniline (n°48). World Health Organization, Geneva.
- Pizon AF, Schwartz AR, Shum LR, Rittenberger JC, Lower DR, Giannoutsos S, Virji MA, Krasowski MD. (2009) Toxicology laboratory analysis and human exposure to 4-chloroaniline. *Clin Toxicol* 2009; 47: 132-136.
- Riffelmann M, Müller G, Schmieding W, Popp W, Norpoth K. (1995). Biomonitoring of urinary aromatic amines and arylamin hemoglobin adducts in exposed workers and nonexposed control persons. *Int Arch Occup Environ Health* 1995; 68: 36-43.
- SCHER, SCCS, SCENIHR. (2012). Opinion on the Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures.
- Thompson CZ, Hill LE, Epp JK, Probst GS (1983) The induction of bacterial mutation and hepatocyte unscheduled DNA synthesis by monosubstituted anilines. *Environmental Mutagenesis*, 5:803–811.
- US EPA. (1988). p-Chloroaniline; CASRN 106-47-8. Integrated Risk Information System (IRIS). Chemical Assessment Summary.
- van der Bijl P, Gelderblom WCA, Thiel P Guillou. (1984). On the mutagenicity of parachloroaniline, a breakdown product of chlorhexidine. *Journal of the Dental Association of South Africa*, 39:535.537.
- van der Vorst, MMJ, Tamminga P, Wijburg FA, schutgens RBH. (1990). Sevre methaemoglinemia due to para-chloroaniline intoxication in premature neonaytes. *Eur J ped* 1990; 50: 72-73.
- Williams GM, Laspia MF, Dunkel VC. (1982). Reliability of the hepatocyte primary culture/DNA repair test in testing of coded carcinogens and noncarcinogens. *Mutation Research*, 97:359–370.
- Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T Miyajima K. (1991). Identification of urinary metabolites in a patient of acute poisoning by 4-chloroaniline. *Sangyo Igaku* 1991; 33: 501-508.
- Yoshida T, Hirata M, Tabuchi T Miyajima K, Andoh K. (1992). Amounts of urinary metabolites of 4-chloroaniline and their half lives in a patient with acute poisoning. *Sangyo Igaku* 1991; 34: 126-130.
- Zeiger E. (1990). Mutagenicity of 42 chemicals in Salmonella. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16(Suppl. 18):32.54.

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

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)