

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR cancérogène par voie inhalée pour le chloroforme

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

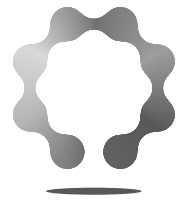
Décembre 2017

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Élaboration de VTR cancérogène par voie inhalée pour le chloroforme

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Décembre 2017

Édition scientifique

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 22 décembre 2017

AVIS du 15 juin 2009 révisé¹ de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

**relatif à l'élaboration de VTR cancérigène par voie inhalée pour le chloroforme
(CAS n°67-66-3)**

L'avis du 15 juin 2009 de l'Afsset, devenue Anses en juillet 2010, portait lors de sa publication sur la recommandation de VTR pour trois substances chimiques : le chloroforme, le tétrachlorure de carbone et le 1,2-dichloroéthane. La VTR du tétrachlorure de carbone ayant fait l'objet d'une actualisation des travaux d'expertise en juin 2017, il était nécessaire de procéder à la révision de l'avis de 2009 susmentionné et d'individualiser l'avis pour chacune de ces substances par l'Anses. Le présent avis révisé relatif au chloroforme reprend les conclusions et recommandations des travaux d'expertise publiés par l'Afsset en 2009 sans aucune actualisation.

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

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

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

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

Ses avis sont publiés sur son site internet.

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

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Les travaux d'expertise font suite à une première saisine adressée à l'Afsset en février 2007 par la Direction générale de la santé (DGS), demandant d'analyser la méthode de construction de VTR suivie par l'Ineris. En effet, dans le cadre d'une demande d'autorisation d'exploiter d'un industriel, l'Ineris a élaboré des VTR pour le 1,2-dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme

¹ Annule et remplace l'avis du 15 juin 2009 sans actualisation des travaux d'expertise menés en 2009 – Voir annexe 1.

et le chlorure de méthylène. Conformément à la demande initiale émanant de l'industriel concerné, ces VTR concernent les effets cancérigènes par inhalation.

En réponse à cette saisine, la cohérence entre la méthode suivie par l'Ineris et celle préconisée à cette date par le groupe de travail (GT) « VTR cancérigènes » a été analysée par des experts rapporteurs du GT. A l'issue de cette première analyse, il était apparu que, si globalement la démarche suivie par l'Ineris pouvait être jugée satisfaisante, les VTR proposées dans le rapport ne pouvaient être approuvées en l'état. En vue de poursuivre cette expertise, l'Afsset a proposé à la DGS d'inscrire ces substances dans son programme de travail 2008, de manière à pouvoir disposer de VTR validées par le CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques ». Par courrier en date du 25 janvier 2008, la DGS a demandé à l'Afsset de proposer des VTR pour le 1,2-dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone et le chloroforme en vue de statuer sur l'utilisation de ces trois valeurs dans la pratique de l'évaluation des risques sanitaires.

Les valeurs toxicologiques de référence (VTR) sont des indices permettant d'établir une relation qualitative, voire quantitative, entre une exposition à une substance chimique et un effet sanitaire chez l'homme.

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

Les VTR à seuil s'expriment comme des doses ou concentrations journalières admissibles. Ces valeurs correspondent à une estimation de la quantité de substance à laquelle un individu peut théoriquement être exposé sans constat d'effet sanitaire néfaste.

Les VTR sans seuil s'expriment sous la forme d'un excès de risque unitaire (ERU). Ces valeurs correspondent à la probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu développe une pathologie (en l'occurrence ici, le cancer), s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance.

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

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » la validation des VTR pour le chloroforme. Pour ce travail, trois rapporteurs membres du groupe de travail « VTR Cancérigènes » ont été nommés.

Le rapport « Élaboration d'une VTR fondée sur les effets cancérigènes du chloroforme » a été soumis au CES « Évaluation des risques sanitaires liés aux substances chimiques » le 20 mars 2008 et validé le 29 mai 2008.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Le chloroforme est un hydrocarbure chloré très volatil utilisé pour le blanchiment des pâtes à papier ou la synthèse chimique. Il est également issu de réactions avec la matière organique azotée lors de la chloration de l'eau.

Les données de génotoxicité disponibles indiquent que ni le chloroforme ni ses métabolites n'apparaissent en mesure d'interagir directement avec l'ADN. Chez l'Homme, des effets hépatotoxiques ont été mis en évidence chez des travailleurs exposés à de nombreux produits dont le chloroforme. Chez les rongeurs, les effets du chloroforme par voie orale et par inhalation ont montré que les organes cibles étaient le foie, les reins et l'épithélium nasal.

Le chloroforme est classé cancérigène de catégorie 3 par l'Union européenne selon la directive 67/548/CE². Le Centre international de recherche sur le cancer (Circ) l'a classé dans le groupe 2B (« L'agent est peut-être cancérigène pour l'homme »).

Conformément aux conclusions du rapport d'expertise collective, l'Afsset propose, pour protéger des effets cancérigènes du chloroforme par inhalation, une VTR à seuil fondée sur des effets critiques précurseurs du cancer.

Effet critique	Dose critique*	UF*	VTR
<p>Prolifération cellulaire dans les tubes rénaux proximaux chez la souris mâle BDF1</p> <p>Etude de toxicité subchronique de 13 semaines chez la souris BDF1</p> <p>Templin <i>et al.</i> 1998³</p>	<p>NOAEL = 5 ppm ou 25 mg.m⁻³</p> <p>Soit après ajustement partiel au temps (6h/24h) NOAEL_{AJ}** = 6,3 mg.m⁻³</p> <p>Pas de détermination de BMD***</p>	<p>100</p> <p>UF_A 10</p> <p>UF_H 10</p> <p>UF_S 1</p>	<p>VTR = 63 µg.m⁻³</p>

* UF : facteur d'incertitude global (appliqué), UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité individuelle, UF_S : utilisation d'une étude subchronique

** NOAEL_{AJ} = NOAEL ajusté au temps d'exposition

*** BMD : benchmark dose

D'une manière générale, lors d'une évaluation globale des risques dans un contexte de multi-exposition, il conviendrait de prendre en compte la somme des risques des composés dès lors qu'ils ont les mêmes organes cibles et les mêmes mécanismes d'actions toxiques (par exemple, le tétrachlorure de carbone et le chloroforme).

Enfin, il est souvent admis que lors de la construction de VTR, un ajustement au temps est appliqué par précaution, compte tenu de l'absence de données scientifiques. Les travaux

² A ce titre et conformément à l'article R. 4411-6 du Code du travail, la substance est considérée comme agent chimique dangereux. Selon les articles R. 4412-15 et R. 4412-16, la réglementation du travail incite à la suppression du risque chimique ou, si elle n'est pas possible, à sa substitution. En dernier lieu, le risque doit être réduit au minimum par la mise en œuvre de mesures de protection adaptées.

³ Templin MV, Constan AA, Wolf DC, Wong BA and Butterworth BE. Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF1 mice correlate with organ specificity and dose-response of tumor formation. *Carcinogenesis* 1998;19(1), 187-193.

du futur groupe de travail « VTR » conduit par l'Afsset devraient permettre d'apporter des éléments sur les conditions d'application d'un tel ajustement lors de l'élaboration de VTR.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions et recommandations du CES qui portent sur l'élaboration d'une VTR cancérogène par voie inhalée pour le chloroforme.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

chloroforme, cancer, VTR.

ANNEXE 1 : SUIVI DES ACTUALISATIONS DU RAPPORT

Date	Version	Description de la modification
Avril 2009	01	Rapport relatif à l'élaboration de VTR fondées sur les effets cancérogènes pour le chloroforme, le tétrachlorure de carbone et le 1,2-dichloroéthane
Juin 2017	02	Séparation du précédent rapport en 3 rapports différents : 1 par substance Pas d'actualisation de l'expertise

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Elaboration de VTR fondées sur les effets cancérogènes pour le chloroforme
(CAS n°67-66-3)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »
Saisine « 2007-SA-0642 »

RAPPORT d'expertise collective d'avril 2009 révisé en juin 2017¹

Comité d'Experts Spécialisés
« Evaluation des risques liés aux substances chimiques »

Avril 2009

¹ Annule et remplace le rapport d'avril 2009 - voir annexe 2

Mots clés

chloroforme, cancer, VTR

Key words

chloroform, cancer, TRV

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 Brigitte Enriquez – Professeur de pharmaco-toxicologie – Ecole nationale vétérinaire d'Alfort - membre du CES « Substances chimiques » et du groupe de travail « VTR Cancer »

M. Michel Falcy – Médecin toxicologue - Adjoint au chef de département « Etudes et Assistance Médicales » – INRS, membre du groupe de travail « VTR Cancer »

M. Jean-Ulrich Mullot – Pharmacien militaire – Chimie analytique, évaluation des risques sanitaires - Ecole du Val de Grâce, membre du groupe de travail « VTR Cancer ».....

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

■ Evaluation des risques liés aux substances chimiques – 20 mars 2008, 29 mai 2008, 23 octobre 2008, 27 novembre 2008, 22 janvier 2009, 26 février 2009

Président

M. Michel GUERBET – Professeur des Universités en toxicologie, Université Rouen

Membres

M. Pierre-Marie BADOT – Professeur des Universités en biologie environnementale, Chrono-Environnement, CNRS, Université de Franche-Comté

Mme Claire BEAUSOLEIL – Pharmacien toxicologue responsable des évaluations européennes des substances chimiques au BERPC

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

Mme Christine CEZARD – Pharmacien toxicologue, centre antipoison de Lille

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

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

Mme Brigitte ENRIQUEZ – Professeur de pharmaco-toxicologie – Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

M. Olivier FARDEL – Professeur des Universités en toxicologie

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

M. Luc FERRARI – Pharmacien toxicologue, centre antipoison de Nancy

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

Mme Nathalie FOUILHE SAM-LAI – Pharmacien toxicologue en centre antipoison

Mme Barbara GOUGET – Chercheur en toxicologie des contaminants physico-chimiques, Toxicologue à l'AFSSA

Mme Dominique GUENOT – Chercheur en cancérologie et neurosciences

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

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

Mme Béatrice LALERE – Docteur en chimie analytique et en environnement, LNE

Mme Annie LAUDET-HESBERT – Pharmacien toxicologue, retraitée

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

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

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

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

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

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

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

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

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

M. Eric THYBAUD – Ecotoxicologue, Ineris

PARTICIPATION ANSES

Coordination et contribution scientifique

M. Laurent Bodin – Chef de projet scientifique – toxicologue

Mme Cécilia Solal – Chef de projet scientifique – toxicologue

Secrétariat administratif

Mme Séverine Boix-Petre

CONTRIBUTIONS EXTÉRIEURES AU(X) COLLECTIF(S)

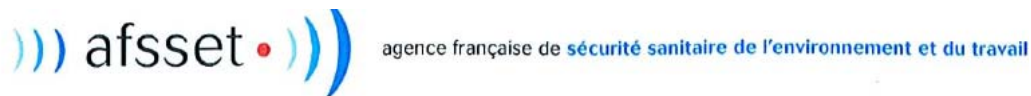
« Rapport d'étude n° 06CR072. Analyse et construction des VTR pour le 1,2-dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme et le chlorure de méthylène » Ineris, septembre 2007.

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions	8
Sigles et abréviations	13
Liste des tableaux	13
Liste des figures	13
1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise	14
1.1 Contexte	14
1.2 Objet de la saisine	14
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	15
1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts.	Erreur ! Signet non défini.
2 Synthèse des données toxicologiques	16
2.1 Identification et propriétés physico-chimiques	16
2.2 Plausibilité d'exposition humaine	17
2.3 Toxicocinétique	17
2.3.1 Absorption	17
2.3.1.1 Voie inhalée	17
2.3.1.2 Voie orale	17
2.3.1.3 Voie cutanée	17
2.3.2 Distribution	17
2.3.2.1 Voie inhalée	17
2.3.2.2 Voie orale	17
2.3.2.3 Voie cutanée	17
2.3.2.4 Métabolisme	18
2.3.2.5 Excrétion - élimination	18
2.3.3 Toxicité aiguë	18
2.3.3.1.1 Voie inhalée	18
2.3.3.1.2 Voie orale	19
2.3.3.1.3 Voie cutanée	19
2.3.4 Toxicité subchronique et chronique	19
2.3.4.1.1 Données animales.....	19
2.3.4.1.2 Données épidémiologiques	19
2.3.5 Reprotoxicité	19
2.3.6 Génotoxicité	19
2.3.7 Cancérogénicité	20
2.4 Elaboration de la VTR par voie inhalée	20
2.4.1 VTR chroniques existantes par inhalation	20
2.4.1.1 VTR à seuil.....	20
2.4.1.2 VTR sans seuil (en cours de révision).....	20
2.4.2 Mécanisme d'action proposé et cohérence des données animales et humaines	21
2.4.2.1 Mécanisme d'action cancérogène	21
2.4.2.2 Cohérence des données animales et humaines.....	21
2.4.3 Choix de l'effet critique.....	22
2.4.4 Justification de l'organe cible	22
2.4.4.1 Voies nasales	22

2.4.4.2	Foie et reins.....	23
2.4.5	Choix de l'étude clé.....	23
2.4.6	Choix de la dose critique.....	24
	Ajustement au temps	25
2.4.7	Choix des facteurs d'incertitude (UF)	26
2.4.7.1	Etude subchronique à chronique.....	26
2.4.7.2	Facteur d'incertitude inter-espèces	26
2.4.7.3	Facteur de variabilité interindividuelle	26
2.4.8	Calcul de la VTR	26
3	Conclusions.....	27
4	Bibliographie	28
	ANNEXES.....	31
	Annexe 1 : Lettre de saisine	32
	Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport.....	35

Expertise collective : synthèse de l'argumentaire et conclusions



EXPERTISE COLLECTIVE : SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Relatif à l'élaboration d'une VTR fondée sur des effets cancérogènes par voie inhalée pour le chloroforme (CASRN 67-66-3)

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

Présentation de la question posée

Ce travail fait suite à une première saisine adressée à l'Afsset en février 2007 par la Direction Générale de la Santé (DGS) relative à l'analyse de la méthode de construction des VTR pour le 1,2-dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme et le chlorure de méthylène suivie par l'INERIS dans le cadre d'une demande d'autorisation d'exploiter d'un industriel. Conformément à la demande initiale, ces VTR concernent les effets cancérogènes induits chez l'animal par inhalation.

En réponse à cette saisine, une analyse de la cohérence entre la méthode suivie par l'Ineris et celle préconisée à cette date par le groupe de travail (GT) «VTR cancérogènes » a été effectuée par des experts rapporteurs du GT. A l'issue de cette première analyse, il était apparu que, si globalement la démarche suivie par l'INERIS pouvait être jugée satisfaisante, les VTR figurant dans le rapport ne pouvaient être approuvées en l'état. En vue de poursuivre cette étude, l'Afsset a donc proposé à la DGS d'inscrire ces substances dans le programme de travail 2008 de manière à pouvoir disposer de VTR validées. Par courrier en date du 25 janvier 2008, la DGS a demandé à l'Afsset de proposer des VTR pour le 1,2-dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone et le chloroforme en vue de statuer sur l'utilisation de ces trois valeurs dans la pratique de l'évaluation des risques sanitaires.

Organisation de l'expertise

Depuis la première analyse effectuée en 2007 par l'AFSSET sur le rapport de l'INERIS « Rapport d'étude n° 06CR072. Analyse et construction des VTR pour le 1,2-dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone, le chloroforme et le chlorure de méthylène » (septembre 2007), une nouvelle version de ce rapport a été publiée sur le site de l'INERIS en septembre 2007. Cette version n'a été que très légèrement modifiée et tient compte uniquement des remarques concernant la démarche bibliographique suivie. Aucun complément concernant la toxicité des substances concernées ou permettant d'améliorer la construction des VTR n'a été apporté. Par conséquent, des travaux complémentaires d'expertise ont dû être conduits par l'Afsset avant de valider les VTR pour ces composés.

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » la validation de la VTR pour le chloroforme. Le CES a mandaté trois rapporteurs membres du groupe de travail « VTR Cancérogènes ».

1 / 5

Expertise collective : synthèse et conclusions

Une première réunion a eu lieu le 29 février 2008 et la démarche de construction de la VTR a été présentée au CES « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » le 20 mars 2008. Suite aux commentaires du CES, une nouvelle réunion de travail avec les experts rapporteurs a eu lieu le 15 mai 2008.

Un rapport intitulé « Construction d'une VTR fondée sur les effets cancérigènes du chloroforme (CASRN 67-66-3) », rédigé par l'Afsset et les experts rapporteurs, présente la démarche, les principales données et les choix qui ont permis la construction de la VTR du chloroforme : choix de l'effet critique, de l'étude clé, de la dose de référence et des facteurs d'incertitudes. Ce rapport a été soumis au CES « Evaluation des risques sanitaires liés aux substances chimiques » et validé en séance le 29 mai 2008.

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

Description de la méthode de travail

La construction des VTR diffère en fonction de l'hypothèse formulée ou des données acquises sur les mécanismes d'action toxique de la substance. Sur la base des conclusions apportées par l'Ineris et des compléments bibliographiques fournis par les rapporteurs, l'hypothèse de construction de la VTR cancérigène pour le chloroforme suit une relation à seuil de dose. La construction est donc définie de la manière suivante :

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

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

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

La méthode est détaillée dans le « Document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets cancérigènes » actuellement en cours de finalisation par le groupe de travail « VTR Cancérigènes » et qui reprend les préconisations du « Document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets reprotoxiques » publié par l'Afsset en juillet 2007.

Résultat de l'expertise collective

Recueil des données toxicologiques

Le chloroforme est un hydrocarbure chloré très volatil, utilisé pour le blanchiment des pâtes à papier ou la synthèse chimique. Il est également issu de réactions avec la matière organique azotée lors de la chloration de l'eau.

Expertise collective : synthèse et conclusions

Le chloroforme est très bien absorbé par inhalation et par voie orale. Il est métabolisé dans le foie et les reins, majoritairement par oxydation par le cytochrome P450 2E1. Le principal métabolite réactif est le phosgène, résultant de la déchloration oxydative du chloroforme en trichlorométhanol. Le phosgène peut former des liaisons covalentes avec les constituants nucléophiles des protéines tissulaires. Il peut être détoxifié par le glutathion ou réagir avec l'eau, pour libérer du dioxyde de carbone et de l'acide chlorhydrique.

L'Union européenne a classé le chloroforme cancérigène de catégorie 3 (substance préoccupante). Les données de génotoxicité disponibles indiquent que ni le chloroforme ni ses métabolites (dont le phosgène) n'apparaissent en mesure d'interagir directement avec l'ADN.

Chez l'Homme, des effets hépatotoxiques ont été mis en évidence chez des travailleurs exposés à de nombreux produits dont le chloroforme.

Chez les rongeurs (rats et souris), les effets du chloroforme suite à des expositions répétées par voie orale et par inhalation ont montré que les organes cibles étaient le foie, les reins et l'épithélium nasal.

Une étude de cancérogenèse par inhalation de chloroforme pendant 104 semaines chez le rat F344 et la souris BDF1 a montré la formation de tumeurs rénales (adénomes et carcinomes) uniquement chez les souris mâles BDF1 après une exposition à 30 ppm (Nagano *et al.*, 1998).

Concernant le mécanisme d'action, l'analyse des études subchroniques (13 semaines) et des études de cancérogenèse (104 semaines) montre que la cytotoxicité et la prolifération cellulaire précèdent toujours l'apparition de tumeurs rénales chez la souris BDF1. La prolifération persistante de cellules régénératives entraîne une probabilité accrue de mutations spontanées et donc de cancer. De même, l'analyse de la relation dose-effet montre que l'apparition des tumeurs est observée à des doses toujours supérieures ou égales à celles induisant une toxicité et une prolifération cellulaire.

Les événements clés conduisant à la formation de tumeur rénales chez la souris mâle BDF1 sont fort probablement la: formation de métabolite réactif, cytotoxicité, nécrose, hyperplasie compensatrice, cancer.

Ainsi, une VTR à seuil fondée sur la prolifération cellulaire, effet précurseur du cancer, peut être proposée pour protéger également des effets cancérogènes. L'effet critique retenu est la prolifération cellulaire induite par le chloroforme.

Analyse et évaluation des choix

Choix de l'étude clé

En raison de la question posée (effet cancérogène par inhalation) et de la disponibilité d'études par cette voie, seules les études réalisées par inhalation ont été discutées. Dans une étude de toxicité sur 13 semaines, Templin *et al.* (1998) ont exposé des souris BDF1 des deux sexes 6 heures par jour et 5 jours par semaine, à 5, 30 et 90 ppm de chloroforme. Une prolifération des cellules rénales a été mise en évidence à 30 ppm chez la souris mâle. Cette étude est conforme aux documents guides édités par l'OCDE et suit les recommandations de bonnes pratiques de laboratoire. Le protocole expérimental est détaillé. La durée d'exposition est cohérente avec la mise en évidence d'un effet critique précurseur (phénomènes de prolifération cellulaire). Cette étude est donc jugée recevable selon la cotation de Klimisch (valide sans restriction) et est retenue comme étude clé.

Cette étude a également été choisie en tenant compte de l'étude de cancérogenèse de Nagano *et al.* (1998) réalisée avec la même souche de souris et dans les mêmes conditions expérimentales, et pour lesquelles une augmentation de l'incidence des tumeurs rénales avait été observée.

Expertise collective : synthèse et conclusions

Choix de la dose critique

Dans l'étude de Templin *et al.* (1998), le NOAEL pour la prolifération cellulaire dans les tubules du cortex rénal est de 5 ppm. L'établissement d'une benchmark dose n'a pas été possible pour les raisons suivantes :

- difficulté de choisir les niveaux d'effet et de réponse jugés comme néfastes pour caractériser la prolifération cellulaire ;
- possibilité qu'à partir d'une certaine dose, la prolifération cellulaire soit masquée par d'autres effets toxiques et entraîne, de manière artificielle, une diminution de la réponse associée à cet effet.
- absence de données chiffrées (moyennes et écarts-types) dans l'article retenu qui n'a pas permis de déterminer une benchmark dose pour une variable continue (marqueur de prolifération cellulaire).

La dose critique est donc un NOAEL de 5 ppm, sachant que le LOAEL se situe à 30 ppm (test de Williams, $p < 0,05$)

Choix des facteurs d'incertitude (UF)

- UF_A : variabilité inter-espèces : le facteur retenu est le facteur maximal de 10 car la dose critique provient d'une étude animale et il n'y a pas suffisamment d'éléments chez l'Homme permettant de connaître sa sensibilité par rapport au rongeur.
- UF_H : variabilité intra-espèce : le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la plus grande hétérogénéité de l'espèce humaine, en l'absence de données chez l'homme permettant de préciser cette variabilité.
- UF_S : utilisation d'une étude subchronique : les préconisations figurant dans le document de référence pour la construction d'une VTR fondée sur des effets cancérogènes en cours de finalisation sont un facteur de 1, 3 ou 10 en fonction des cas. Dans l'étude clé sélectionnée (Templin *et al.* 1998), les souris ont été exposées seulement 13 semaines. Il existe toutefois une étude de cancérogenèse par inhalation réalisée avec la même souche de souris et dans les mêmes conditions expérimentales, dans laquelle des augmentations significatives de l'incidence des tumeurs rénales ont été observées à partir de 30 ppm lors d'exposition 6 heures par jour, 5 jours par semaine, pendant deux ans aux doses de 5, 30 et 90 ppm (Nagano *et al.* 1998). Ainsi le facteur retenu sera de 1.
- Ajustement au temps : dans une étude réalisée en 1996 par Larson *et al.*, le chloroforme a été administré par inhalation pendant 13 semaines à des souris B6C3F1, à des doses qui variaient de 0 à 90 ppm. La prolifération cellulaire rénale chez les souris mâles a significativement augmenté aux concentrations de 30 ppm, lorsque l'exposition était répartie sur 7 jours par semaine et à seulement 10 ppm, lorsqu'elle était répartie sur 5 jours par semaine. Par conséquent un ajustement de 7 jours sur 7 plutôt que de 5 jours sur 7 ne paraît pas pertinent. En revanche, par précaution, il est proposé de conserver l'ajustement horaire de 6 heures sur 24 heures.

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

Le CES attire l'attention sur le fait que cette VTR est construite sur une étude animale, et sur l'hypothèse que le mode d'action est similaire chez l'Homme et la souris BDF1.

Expertise collective : synthèse et conclusions

Conclusions de l'expertise collective

- ▶ Le chloroforme est une substance qui a fait l'objet de nombreuses études (relations dose-réponse et mécanisme d'action) et rapports d'évaluation des risques.
- ▶ Les effets observés chez l'animal (rat, souris) sont pertinents pour l'homme et la prolifération cellulaire peut être retenue comme effet critique précurseur d'un effet cancérogène.

Une VTR à seuil peut ainsi être proposée pour les effets cancérogènes du chloroforme.

Effet critique	Dose critique*	UF*	VTR
Prolifération cellulaire dans les tubes rénaux proximaux chez la souris mâle BDF1 Etude de 13 semaines de Templin <i>et al.</i> 1998	NOAEL = 5 ppm ou 25 mg.m ⁻³ Soit après ajustement partiel au temps (6h/24h) NOAEL _{AJ} = 6,3 mg.m ⁻³	100 UF _A 10 UF _H 10 UFs 1	VTR = 63 µg.m ⁻³ Niveau de confiance Recueil de données : fort Etude : fort VTR : bon

*UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité inter-individuel, UF_s : utilisation d'une étude subchronique

NOAEL_{AJ} = NOAEL ajusté au temps d'exposition

Recommandations du CES

En raison de la similitude de mécanisme d'action (métabolisme, organes cibles ...) avec d'autres composés susceptibles d'être rencontrés avec le chloroforme, notamment le tétrachlorure de carbone, le CES recommande de ne pas retenir l'utilisation des VTR de manière isolée lors de la gestion du risque.

Concernant l'ajustement au temps, par précaution et par défaut (en attente des résultats des travaux du groupe de travail « VTR » sur l'ajustement au temps), le CES recommande d'appliquer un ajustement horaire de 6 heures sur 24 heures pour l'élaboration de cette VTR.

Maisons-Alfort, le 10 juillet 2008

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

Le président du CES



Sigles et abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Etats-Unis)

BMD : Benchmark dose

CEH : Concentration équivalente chez l'homme (Human equivalent concentration)

CCl₄ : Tétrachlorure de carbone

DCE : 1,2-dichloroéthane

ERU : Excès de risque unitaire

HEC : Human equivalent concentration (concentration équivalente chez l'homme)

ICPE : Installation classée pour la protection de l'environnement

Ineris : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

LMS : Linearized multistage (modèle multi-étapes linéarisé)

LOAEC : Concentration minimale entraînant un effet néfaste observe (« lowest observed adverse effect concentration »)

NCI : National Cancer Institute (Etats-Unis)

NOAEC : Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé (« no observed adverse effect concentration »)

OEHHA : Office of environmental health hazard assessment

P450 2E1 : Cytochrome P450 (ou CYP 2E1)

POD : Point of departure (point de départ vers le domaine des faibles doses)

RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (Institut national hollandais pour la santé publique et l'environnement)

UF : Facteur d'incertitude (Uncertainty factor)

US EPA : United State Environmental Protection Agency (Etats-Unis)

VTR : Valeur toxicologique de référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification du chloroforme _____	16
Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du chloroforme _____	16
Tableau 3 : Caractéristiques de l'étude de Templin <i>et al.</i> 1998 _____	24
Tableau 4 : Mise en perspective de la VTR élaborée pour le chloroforme _____	27

Liste des figures

Figure 1 : Métabolisme du chloroforme _____	18
Figure 2 : Prolifération cellulaire au niveau rénal (Templin <i>et al.</i> 1998) _____	25

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. Ainsi, si une substance est connue comme ayant une action directe sur le matériel génétique humain (l'ADN), alors on considère que les effets indésirables que peut engendrer une exposition à cette substance (qui sont généralement des cancers, sauf si le matériel génétique atteint est celui des cellules de la reproduction) peuvent se produire même pour la plus faible dose reçue, et que la probabilité de survenue de cet effet croît linéairement avec la dose. On parle de VTR « sans seuil de dose ». Si une substance n'a pas d'action directe sur le matériel génétique humain, alors on considère en général que l'effet indésirable survient au-delà d'une certaine dose reçue et que c'est la gravité de l'effet qui croît avec la dose plutôt que la probabilité de survenue. On parle de VTR « à seuil de dose ».

L'élaboration de ces VTR suit une approche très structurée et exigeante qui implique des évaluations collectives par des groupes de spécialistes. Elles sont par ailleurs largement impliquées dans la démarche d'évaluation des risques sanitaires, processus décisionnel visant à fournir les éléments scientifiques essentiels à la proposition d'actions correctives par les gestionnaires de risque. Leur élaboration et leur utilisation s'inscrivent donc dans une procédure lourde, aux conséquences majeures en termes de santé publique.

En 2007, l'Ineris publiait un rapport sur la construction de VTR pour le tétrachlorure de carbone, le 1,2-dichloroéthane, le chloroforme et le chlorure de méthylène dans la cadre d'une demande d'autorisation d'exploiter une installation classée pour la protection de l'environnement (ICPE) émanant d'un industriel.

1.2 Objet de la saisine

En février 2007, la Direction Générale de la Santé (DGS) saisissait l'Afsset pour analyser la méthode de construction des VTR du 1,2-dichloroéthane, du tétrachlorure de carbone, du chloroforme et du chlorure de méthylène suivie par l'Ineris. Conformément à la demande initiale, ces VTR concernent les effets cancérogènes induits par une exposition par inhalation.

En réponse à cette saisine, une analyse de la cohérence entre la méthode suivie par l'Ineris et celle préconisée à cette date par le groupe de travail (GT) « VTR cancérogènes » a été effectuée par des experts rapporteurs du GT. A l'issue de cette première analyse, il était apparu que, si, globalement, la démarche suivie par l'Ineris pouvait être jugée satisfaisante, les VTR proposées dans le rapport ne pouvaient être approuvées en l'état.

En vue de poursuivre cette étude, l'Afsset a donc proposé à la DGS d'inscrire ces substances dans le programme de travail de construction de VTR en 2008, de manière à pouvoir disposer de VTR validées, ce que la DGS a accepté par courrier le 25 janvier 2008.

Le 25 janvier 2008, la DGS demandait à l'Afsset de lui faire connaître son avis final ou les travaux prévus, le cas échéant, en vue de statuer sur l'utilisation des VTR pour le chloroforme et le tétrachlorure de carbone dans un premier temps, puis du 1,2-dichloroéthane dans un second temps. Les trois mêmes experts rapporteurs ont à nouveau été nommés afin de poursuivre le travail réalisé.

Les copies des saisines adressées à l'Afsset sont en Annexe 1.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Afsset a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Evaluation des risques liés aux substances chimiques » l'instruction de cette saisine (synthèse des déclarations publiques d'intérêts en **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

Une première réunion a eu lieu le 29 février 2008 pour le chloroforme et le tétrachlorure de carbone, et le 17 octobre 2008 pour le 1,2-dichloroéthane, afin de compléter les points manquants du rapport de l'Ineris et de proposer de nouvelles VTR en cohérence avec les préconisations émises par les rapporteurs. Ces VTR ont été présentées au CES « Substances chimiques » pour discussion et validation.

Ce rapport, rédigé par l'Afsset, repose sur une recherche bibliographique jusqu'en mars 2008 pour le chloroforme et le tétrachlorure de carbone, et février 2009 pour le 1,2-dichloroéthane. Il présente la démarche, les principales données et les choix qui ont permis la construction des VTR : choix de l'effet critique, de l'étude clé, de la dose de référence, des facteurs d'incertitudes ou du modèle d'extrapolation aux faibles doses. Les travaux ont été soumis au CES « Substances chimiques » d'une part concernant le chloroforme et le tétrachlorure de carbone, le 20 mars 2008 pour commentaires et le 29 mai 2008 pour adoption, et d'autre part concernant le 1,2-dichloroéthane, le 27 novembre 2008 pour commentaires et le 26 février 2009 pour adoption.

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

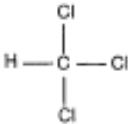
2 Synthèse des données toxicologiques

Note : ne seront développés que les éléments permettant de comprendre la démarche et les choix qui ont permis la construction de la VTR du chloroforme.

2.1 Identification et propriétés physico-chimiques

Le chloroforme est une substance chimique comportant 3 atomes de chlore. Son identification est donnée dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Identification du chloroforme

Numéro CAS	67-66-3
Nom	Chloroforme
Formule brute	CHCl ₃
Formule développée	
Appartenance à une liste de substances classées pour leur potentiel cancérogène	UE : Cat. 3 (R40) "substance préoccupante pour l'homme" Circ : 2B (1999) "possibly carcinogenic to humans"

Le chloroforme se présente sous forme d'un liquide dont les principales propriétés physicochimiques sont données dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques du chloroforme

Forme physique	liquide
Masse Molaire (g/mol)	119,38
Point d'ébullition (°C)	61,3
Pression de vapeur (Pa)²	21262 à 20 °C 26264 à 25 °C
Densité	
-vapeur	4,12
-liquide	1,48
Facteurs de conversion	1 ppm = 4,96 mg.m ⁻³
Solubilité dans l'eau (mg.L⁻¹)	8200 à 20 °C
Constante de Henry (Pa.m³/mol)³	299 à 20 °C 384 à 25 °C
Log Kow⁴	1,97

² La pression de vapeur est la pression partielle de la vapeur d'un corps présent également sous forme liquide ou solide.

³ Constante de Henry : la loi de Henry établit à l'équilibre, les concentrations en gaz dissous dans un liquide : $p(i) = x(i) \cdot K_H(i)$ avec $p(i)$: pression partielle du gaz "i" dans la phase gazeuse, $x(i)$: fraction molaire du gaz "i", et $K_H(i)$: constante de Henry du gaz "i".

2.2 Plausibilité d'exposition humaine

En raison de sa très grande volatilité, l'homme est exposé majoritairement par inhalation au chloroforme. Les principales sources d'exposition comprennent l'utilisation du chloroforme comme intermédiaire pour la fabrication de chlorodifluorométhane (HCFC 22) et d'intermédiaire de synthèse ou de solvant, ainsi que les usines de produits chimiques. Le chloroforme est également produit involontairement lors de la désinfection de l'eau par des procédés utilisant le chlore (INERIS 2006).

2.3 Toxicocinétique

2.3.1 Absorption

2.3.1.1 Voie inhalée

C'est la voie principale de pénétration du chloroforme dans l'organisme (ou plutôt c'est la voie principale d'exposition, l'absorption du chloroforme étant élevée pour la voie respiratoire mais aussi par voie orale). Son absorption pulmonaire peut être estimée à 80% et dépend de la concentration dans l'air inhalé, de la durée d'exposition, du coefficient de partage sang/air, ainsi que de la ventilation.

2.3.1.2 Voie orale

L'absorption du chloroforme peut être estimée à 100% mais est influencée par son mode d'administration. Ainsi, après une administration dans l'eau, les concentrations de chloroforme observées dans les tissus chez la souris sont plus élevées qu'après une administration dans l'huile de maïs.

2.3.1.3 Voie cutanée

Lorsque le chloroforme est administré en solution dans l'eau, le pourcentage d'absorption cutanée est de 8,2% et lorsqu'il est en solution dans l'éthanol, seulement de 1,7%.

2.3.2 Distribution

2.3.2.1 Voie inhalée

Le chloroforme est distribué dans tout l'organisme par la circulation sanguine. En raison de sa liposolubilité, le chloroforme se distribue préférentiellement dans les tissus adipeux.

La concentration de chloroforme dans le sang artériel est directement proportionnelle à la concentration inhalée. Le chloroforme traverse la barrière placentaire et est excrété dans le lait maternel.

2.3.2.2 Voie orale

Les éléments concernant l'absorption du chloroforme par voie orale ne sont pas repris dans ce rapport d'expertise. Pour plus d'information, le lecteur pourra se référer à l'US EPA (US EPA 2001).

2.3.2.3 Voie cutanée

Les éléments concernant l'absorption du chloroforme par voie cutanée ne sont pas repris dans ce rapport d'expertise. Pour plus d'information, le lecteur pourra se référer à l'US EPA (US EPA 2001).

⁴ LogKow : logarithme du coefficient de partage octanol-eau. Il correspond au ratio entre la concentration de la substance dans l'octanol et celle dans l'eau à l'équilibre. Il est corrélé à la solubilité dans l'eau et reflète indirectement les potentiels de bioconcentration et de bioaccumulation d'une substance.

2.3.2.4 Métabolisme

Le chloroforme est métabolisé principalement dans le foie et les reins, et subit une étape de métabolisation qui dépend du cytochrome P450 2E 1 (CYP2E1). Le principal métabolite réactif est le phosgène qui résulte de la déchloration oxydative du chloroforme en trichlorométhanol, dont la déshydrohalogénéation est spontanée. Le phosgène peut former des liaisons covalentes avec les constituants nucléophiles des protéines tissulaires. Le phosgène réagit avec l'eau, pour libérer du dioxyde de carbone et de l'acide chlorhydrique (Figure 1). Le glutathion est le principal agent de détoxification du phosgène dans l'organisme.

Cette implication du CYP2E1 est confirmée par des études dans lesquelles des souris B6C3F1 et Sv/129 (déficiante en gène codant pour la protéine CYP2E1) ont été exposées au chloroforme. Les souris B6C3F1 ont présenté une nécrose hépatique et rénale, une prolifération cellulaire régénérative et une toxicité au niveau des cornets nasaux. Chez les souris Sv/129, dépourvues de CYP2E1, aucun effet n'a été observé (Constan *et al.* 1999).

Une corrélation entre la répartition du CYP2E1, la métabolisation du chloroforme et les localisations des lésions hépatiques et rénales a été observée.

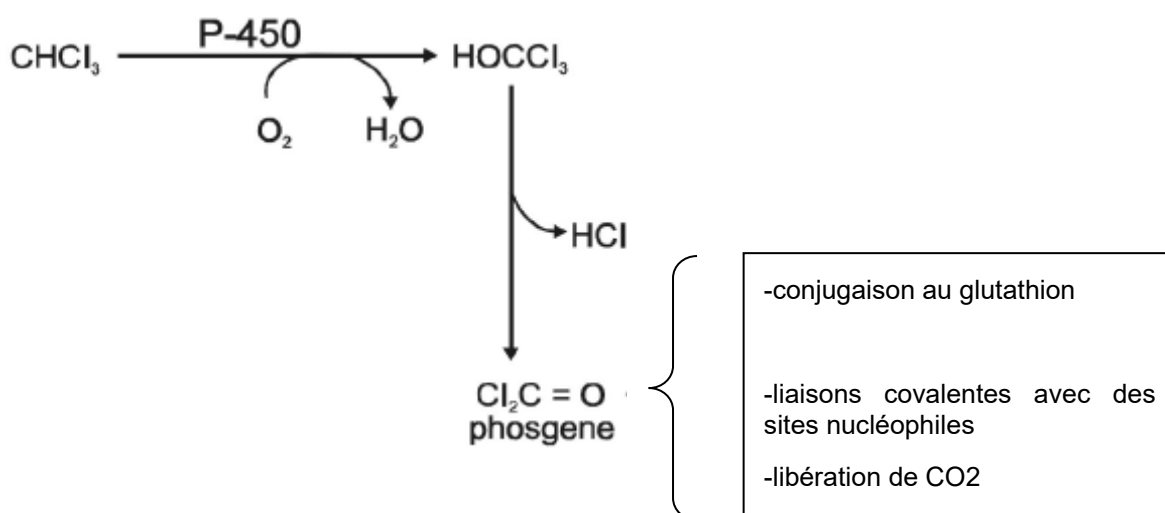


Figure 1 : Métabolisme du chloroforme

2.3.2.5 Excrétion - élimination

Le chloroforme est éliminé soit sous forme inchangée, soit sous forme de dioxyde de carbone, par voie pulmonaire et, dans une moindre mesure, par voie urinaire et fécale.

2.3.3 Toxicité aiguë

2.3.3.1.1 Voie inhalée

Le chloroforme a été largement utilisé comme agent anesthésiant à des concentrations de 3 000 à 30 000 ppm. Les effets suivants ont été observés chez des patients anesthésiés :

- augmentation (anesthésie légère) ou diminution (anesthésie profonde et prolongée) de la fréquence respiratoire,
- bradycardie
- arythmie cardiaque
- hypotension

- nausées et vomissements (au réveil)

Quelques cas cliniques font mention d'une hépatotoxicité et de dommages rénaux suite à l'anesthésie.

Une exposition à des concentrations de l'ordre de 40 000 ppm pendant plusieurs minutes peut causer la mort selon d'anciens rapports de cas cliniques (INERIS 2005).

2.3.3.1.2 Voie orale

Les symptômes observés après ingestion sont similaires à ceux observés après inhalation. La dose létale moyenne pour un adulte est estimée à environ 45 g (30 ml) par la voie orale. Cependant, une étude indique une dose mortelle plus basse (10 ml).

2.3.3.1.3 Voie cutanée

Non détaillé, se reporter à l'US EPA (US EPA 2001).

2.3.4 Toxicité subchronique et chronique

2.3.4.1.1 Données animales

Chez les rats et les souris, les effets du chloroforme suite à des expositions répétées par voie orale et par inhalation, ont montré que les organes cibles étaient le foie, les reins et l'épithélium nasal. Il a ainsi été observé une cytotoxicité, suivie d'une prolifération régénérative dans les tubules proximaux du rein, la région centrolobulaire du foie et les cornets ethmoïdaux du nez (Larson *et al.* 1996d; Templin *et al.* 1996d; Templin *et al.* 1998d).

2.3.4.1.2 Données épidémiologiques

Les données recueillies auprès de travailleurs exposés au chloroforme pendant 3 à 10 ans, ont permis de décrire les effets suivants : lassitude, soif, troubles gastro-intestinaux, manque de concentration, dépression et irritabilité (Bomski *et al.* 1967; Li *et al.* 1993b).

Des effets hépatotoxiques ont également été rapportés chez des personnes exposées en milieu de travail. La relation entre exposition au chloroforme et la néphrotoxicité rencontrée chez l'homme reste à démontrer. Les effets ne peuvent être attribués à la seule exposition au chloroforme puisque les travailleurs étaient simultanément exposés à de nombreux produits chimiques (Bomski *et al.* 1967; Li *et al.* 1993a). Aucune toxicité nasale ou du tractus respiratoire n'ont été décrit chez l'homme.

2.3.5 Reprotoxicité

Les études de toxicité sur la reproduction et le développement chez les rongeurs et non rongeurs, exposé par voie orale, n'ont pas mis en évidence d'effets tératogènes, tandis que des effets sur la reproduction n'ont été observés qu'à des doses toxiques pour les mères (cytotoxicité hépatique, rénale ou nasale).

Ces études ne seront donc pas détaillées ici. Pour plus d'information il est recommandé de se reporter à la fiche INERIS ou au projet d'évaluation des risques européenne.

2.3.6 Génotoxicité

Un grand nombre d'études visant à mettre en évidence une activité génotoxique du chloroforme ont été publiées. Les données disponibles indiquent que ni le chloroforme ni ses métabolites (dont le phosgène) n'apparaissent en mesure d'interagir directement avec l'ADN ou ne possèdent d'activité génotoxique (Gift *et al.* 2008; Golden *et al.* 1997; US EPA 2001).

La majorité des études *in vitro* ont donné des résultats négatifs dans une variété de tests (locus spécifique, aberrations chromosomiques, échange de chromatides sœurs, liaison à l'ADN).

De la même manière, les divers types de tests (aberrations chromosomiques, échange de chromatides sœurs, micronoyaux) qui ont été réalisés chez l'animal *in vivo* par différentes voies d'exposition se sont révélés majoritairement négatifs (ATSDR 1997).

L'Union européenne a pour sa part maintenu le classement du chloroforme cancérigène de catégorie 3 (substance préoccupante).

2.3.7 Cancérogénicité

Dans les études de cancérogénèse chez les rongeurs, après exposition orale ou par inhalation, le chloroforme a provoqué des tumeurs hépatiques chez les souris ainsi que des tumeurs rénales chez les souris et les rats mâles (Jorgenson *et al.* 1985c; Nagano K *et al.* 1998; Yamamoto S *et al.* 1994).

En ce qui concerne la voie orale, la cancérogénicité varie selon les excipients utilisés (eau versus huile de maïs), le mode d'administration (gavage versus eau de boisson) ainsi que selon le sexe, les espèces et les souches. Par exemple, des études ont décrit l'apparition de tumeurs hépatiques chez des souris B6C3F1 traitées par gavage de chloroforme dans l'huile de maïs (Hard *et al.* 2000), mais pas après administration des mêmes doses journalières dans l'eau de boisson (Jorgenson *et al.* 1985b; US EPA 2001). Dans des études réalisées sur la même souche sur des temps plus court (13 semaines), une cytotoxicité et une prolifération cellulaire ont été observées au niveau hépatique aux mêmes doses que celles induisant des tumeurs dans l'étude de cancérogénèse (Larson *et al.* 1994c).

Par inhalation, le chloroforme provoque des tumeurs du foie chez les souris BDF1 et des tumeurs du rein chez les souris mâles (Nagano K *et al.* 1998; Yamamoto S *et al.* 1994). Il existe une concordance entre les études subchroniques (13 semaines) et les études de cancérogénèses (104 semaines) où la cytotoxicité et la prolifération cellulaire précèdent toujours l'apparition de tumeurs rénales chez la souris BDF1.

Cette cytotoxicité est à relier à la vitesse de formation de phosgène (principal métabolite réactif).

Le chloroforme provoque des lésions nasales (incluant des métaplasies de l'épithélium olfactif) chez les rats et les souris exposés par inhalation et ingestion, mais aucune tumeur n'a été observée.

2.4 Elaboration de la VTR par voie inhalée

2.4.1 VTR chroniques existantes par inhalation

2.4.1.1 VTR à seuil

ATSDR : 0,02 ppm (0,098 mg.m⁻³)

Cette valeur a été établie en prenant en compte les symptômes observés chez des travailleurs exposés au chloroforme à une concentration allant de 2 à 205 ppm durant 1 à 4 ans. Des effets sur le foie ont été observés dès 2 ppm dans 25 % des cas (Bomski *et al.* 1967).

Facteurs d'incertitude : un facteur 10 est appliqué car la valeur utilisée est une LOAEC et un facteur 10 pour la variabilité au sein de la population.

OEHHA : 0,05 ppm (0,3 mg.m⁻³)

Cette valeur est basée sur une étude expérimentale chez le rat (souche non renseignée) exposé durant 6 mois (7 h/j, 5 jours/sem.) à 0, 25, 50 ou 85 ppm de chloroforme par inhalation (Torkelson *et al.* 1976).

Une LOAEC de 25 ppm a été établie pour les effets hépatiques et rénaux, ce qui équivaut à 5,2 ppm pour une exposition continue (25 x 7/24 x 5/7). Une concentration équivalente chez l'homme de 15,9 ppm a été calculée.

Facteurs d'incertitude : un facteur 10 est appliqué car la valeur utilisée est une LOAEC, un facteur 3 pour l'extrapolation de données animales vers l'homme et un facteur 10 pour la variabilité au sein de la population.

Source : Ineris 2005.

2.4.1.2 VTR sans seuil (en cours de révision)

US EPA : 2,3.10⁻⁵ (µg/m³)⁻¹

Cette valeur a été calculée à partir de l'étude du NCI (1976), qui a estimé l'incidence de carcinomes hépatocellulaires chez des souris B6C3F1 mâles et femelles après gavage au chloroforme. Les valeurs

d'incidence des tumeurs ont été utilisées pour établir des risques unitaires de $3,3 \cdot 10^{-2}$ (mg/kg/j)⁻¹ pour les mâles et $2 \cdot 10^{-1}$ (mg/kg/j)⁻¹ pour les femelles. Le risque unitaire a été calculé en considérant la moyenne géométrique de ces valeurs (NCI 1976).

OEHA : $5,3 \cdot 10^{-6}$ (µg/m³)⁻¹

Cette valeur a été estimée à partir des données de cancérogénèse issues de 4 études par gavage chez le rat et la souris (Jorgenson *et al.* 1985a; NCI 1976; Roe *et al.* 1979; Tumasonis *et al.* 1987). Les doses administrées ont été transformées en doses "vie entière" en ajustant au nombre de jours d'exposition par semaine et au rapport de la durée de l'exposition sur la durée totale de l'expérimentation.

Source : Ineris 2005.

2.4.2 Mécanisme d'action proposé et cohérence des données animales et humaines

2.4.2.1 Mécanisme d'action cancérogène

Le mode d'action retenu passe par les 4 étapes suivantes :

1- métabolisation en intermédiaire réactif.

La toxicité du chloroforme est attribuée à son métabolite électrophile (le phosgène formé par le CYP2E1). Le phosgène peut être neutralisé par le glutathion.

2- cytotoxicité

Le phosgène peut se lier de façon covalente aux molécules porteuses de groupements nucléophiles avec pour conséquence la destruction de la cellule, et au final à une nécrose hépatique ou rénale. Des dommages cellulaires ont été observés dans des études court-terme au niveau des tissus qui expriment le CYP 2E1 (foie et reins). Ces liaisons covalentes du phosgène au niveau hépatique et rénal sont augmentées en cas de déplétion du glutathion. Le glutathion exerce ainsi un effet protecteur sur la toxicité du chloroforme.

3- prolifération cellulaire régénérative

La réaction du foie ou des reins à la nécrose est l'hyperplasie compensatrice, qui se traduit par une augmentation du taux de renouvellement des cellules hépatiques ou rénales (ou prolifération cellulaires régénérative).

4- formation de tumeurs dans le foie et les reins

Le chloroforme est cancérogène chez le rat Osborne-Mendel (reins) et la souris BDF1 (reins). Les tumeurs ont été observées dans différentes souches et par diverses voies d'administration. La prolifération persistante de cellules régénératives mènent à une probabilité accrue de mutations spontanées puis au cancer. L'apparition de tumeur est observée à des doses supérieures ou égales à celle induisant une toxicité et une prolifération cellulaire (relation dose-effet). Chronologiquement, les étapes 2 et 3 sont observées avant la formation des tumeurs, ce qui est cohérent avec le mode d'action décrit. Les tumeurs ne sont pas systématiquement observées sur les tissus lésés.

Conclusion

Le mode d'action (métabolisme induisant une cytotoxicité à l'origine d'une prolifération cellulaire et de l'apparition de tumeurs) est biologiquement plausible. Une relation dose-effet est observée, ainsi qu'une relation temporelle. Il n'y a pas, en l'état actuel des connaissances d'autres modes d'action envisageable (en particulier le chloroforme et ses métabolites ne réagissent pas avec l'ADN).

2.4.2.2 Cohérence des données animales et humaines

Une analyse de la concordance des événements clés décrits ci-dessus entre l'animal et l'homme a été réalisée :

1- métabolisation en intermédiaire réactif

Le CYP 2E1 est présent chez l'homme et chez les rongeurs au niveau hépatique et rénal (Tsutsumi *et al.* 1989). Le métabolisme du chloroforme serait plus rapide chez le rat et la souris que chez l'homme (Delic *et al.* 2000).

2- cytotoxicité

Une cytotoxicité liée au chloroforme n'a jamais été décrite chez l'homme mais elle est plausible. Des lésions rénales et hépatiques ont été observées après une exposition professionnelle (anesthésique) (INERIS 2005).

3- prolifération cellulaire et apparition de tumeurs

Non décrite chez l'homme.

En conclusion, le mode d'action ne peut pas être raisonnablement écarté chez l'homme sur la base d'éléments qualitatifs ou quantitatifs différenciant l'homme de l'animal.

Le groupe d'expert s'est donc orienté vers la construction d'une VTR cancérogène à seuil en prenant comme effet critique la prolifération cellulaire qui serait précurseur du cancer.

2.4.3 Choix de l'effet critique

Dans l'étude de cancérogenèse disponible par voie inhalée utilisée par l'INERIS pour la construction de sa VTR (Nagano K *et al.* 1998; Yamamoto S *et al.* 1994), les effets précoces (cytotoxicité et prolifération cellulaire) n'avaient pas été mesurés.

Il existe des études subchroniques (13 semaines) réalisées dans les mêmes conditions expérimentales et avec les mêmes souches animales, dans lesquelles la prolifération cellulaire a été observée à des doses inférieures ou égales à celles induisant des tumeurs dans les études de cancérogenèse. En effet, dans les études de cancérogenèse (104 semaines), les doses auxquelles des tumeurs ont été observées après administration **par gavage** dans l'huile de maïs (tumeurs hépatiques chez les souris B6C3F1), correspondent, dans les études court terme (13 semaines), à une prolifération cellulaires dans le foie de la souche exposée de la même façon (Larson *et al.* 1994b; Larson *et al.* 1995b).

Inversement, après **ingestion** de chloroforme **dans l'eau de boisson** dans les études court terme (13 semaines), il n'y a pas eu d'augmentation de la prolifération cellulaire, et ce, pour des doses qui n'ont pas augmenté l'incidence des tumeurs hépatiques dans les études de cancérogenèses (104 semaines) (Larson *et al.* 1994a; Larson *et al.* 1995a).

Enfin, malgré une prolifération accrue des cellules du tissu épithélial du nez des rats et des souris, aucune tumeur n'a jamais été observée (Nagano K *et al.* 1998; Yamamoto S *et al.* 1994).

En conclusion, la **prolifération cellulaire** serait une condition préalable nécessaire (mais pas suffisante) pour l'apparition des tumeurs provoquées par le chloroforme au niveau hépatique et rénal.

2.4.4 Justification de l'organe cible

Chez les rongeurs, les organes dans lesquels on observe une cytotoxicité et une prolifération cellulaire provoquées par le chloroforme (foie, reins et voies nasales) sont bien corrélés avec la répartition du CYP2E1.

2.4.4.1 Voies nasales

L'exposition par inhalation entraîne des proliférations cellulaires dans les voies nasales des rongeurs à des doses très faibles (2 ppm ou 10 mg.m⁻³). Cependant, les voies nasales n'ont pas été retenues pour le choix de l'organe cible puisque cet organe n'est pas la cible de tumeurs. De plus, à l'inverse des rongeurs, le CYP2E1 est très faiblement exprimé au niveau de l'épithélium nasale humain, contrairement aux tissus hépatiques et rénaux (Bieche *et al.* 2007; Choudhary *et al.* 2005; Ding and Kaminsky 2003).

2.4.4.2 Foie et reins

Le foie et les reins semblent être les organes cibles communs aux rongeurs et à l'homme. En effet, ce sont les sites majoritaires de la métabolisation du chloroforme, en raison de l'expression chez ces différentes espèces du CYP2E1. Chez l'homme, on soupçonne par ailleurs, au vue des études épidémiologiques, des effets hépatotoxiques et néphrotoxiques.

D'autre part, dans les études de cancérogenèse animales, seules des tumeurs hépatiques et rénales ont été décrites.

Pour ces raisons, ces deux organes peuvent donc être sélectionnés comme organe cibles.

2.4.5 Choix de l'étude clé

En raison des différences dans la réponse selon la voie d'administration du chloroforme et des problèmes d'extrapolation de voie à voie, le groupe de travail a décidé, pour l'élaboration de cette VTR pour la voie inhalée, de se baser sur les études animales de toxicité chronique et subchronique où le chloroforme a été administré par inhalation.

1-Nagano *et al.* 1998 : Etude 104 semaines F344 rats and BDF1(Nagano K *et al.* 1998)

Pour les raisons évoquées précédemment, il s'agit d'une étude de cancérogenèse qui ne peut être utilisée pour la construction d'une VTR basée sur des effets précurseurs du cancer.

2-Larson *et al.* 1996 : Etude 13 semaines souris B6C3F1(Larson *et al.* 1996c)

Dans cette étude de 13 semaines, dans laquelle du chloroforme a été administré par inhalation à des souris B6C3F1, à des doses qui variaient de 0 à 90 ppm (0 à 441 mg.m⁻³), la prolifération cellulaire rénale chez les souris mâles a significativement augmenté aux concentrations de 30 ppm (147 mg.m⁻³), lorsque l'exposition était répartie sur 7 jours par semaine et à seulement 10 ppm (49 mg.m⁻³), lorsqu'elle était répartie sur 5 jours par semaine. Chez les femelles, l'indice n'a augmenté à aucune concentration (Larson *et al.* 1996b).

Cette étude n'a pas été retenue puisqu'il n'existe pas d'étude de cancérogenèses pour la voie inhalée, réalisée sur cette souche de souris.

3- Templin *et al.* 1996 : Etude 13 semaines rat F344 (Templin *et al.* 1996c)

L'inhalation de chloroforme pendant 4 jours, 3 semaines, 6 semaines et 13 semaines a entraîné une augmentation de la prolifération des cellules épithéliales des tubes proximaux du cortex rénal de rats F344, aux doses journalières supérieures à 30 ppm (147 mg.m⁻³) (Templin *et al.* 1996a).

Cette étude n'a pas été retenue (Templin *et al.* 1996b), puisque aucune tumeur hépatique ou rénale n'a été retrouvée dans les études de cancérogenèses chez le rat F344 (Nagano K *et al.* 1998; Yamamoto S *et al.* 1994).

4-Templin *et al.* 1998 : Etude 13 semaines, souris BDF1 (Templin *et al.* 1998c) (Tableau 3). Cette étude a été retenue en raison de l'existence de deux études de cancérogenèse par inhalation réalisée avec la même souche de souris et dans les mêmes conditions expérimentales, et pour lesquelles une augmentation de l'incidence des tumeurs rénales avait été observée (Nagano K *et al.* 1998; Yamamoto S *et al.* 1994).

Tableau 3 : Caractéristiques de l'étude de Templin *et al.* 1998

Protocole	Pertinence de l'étude	Données métaboliques	Données mécanistiques	Lésions (endpoints)	Concentrations
<ul style="list-style-type: none"> - 1 espèce = souris (BDF1) - Suivi poids - Lésions rénales et hépatiques - Variations suivant le sexe - Exposition pendant 13 semaines (moyen terme) : à 5, 30, 90 ppm - pompes à BrdU pour déterminer le % de cellules en phase S (LI) dans les tubes rénaux proximaux et les hépatocytes ; procédé d'analyse d'imagerie cellulaire détectant les processus de « prolifération ». 	<ul style="list-style-type: none"> - GLP (1998) - Pas de données sur pureté de CHCl₃ (rechercher dans les études précédente 1996, même auteur) - Etablissement de la plus faible dose qui donne des effets significativement plus élevés que chez les témoins. <u>DONC</u> = étude de la relation • dose et durée / réponse - Voie d'exposition (inhalation) Similaire à celle de l'exposition professionnelle 	<ul style="list-style-type: none"> - Souris mâles plus sensibles (augmentation des LI dans le rein surtout et dans le foie) sans doute en lien avec un métabolisme quantitativement (ou qualitativement) différent selon le sexe. 	<ul style="list-style-type: none"> - LI et tumeurs rénales / hépatiques sont considérés comme les effets toxiques les plus sensibles - Une augmentation des L.I est une condition nécessaire mais non suffisante à l'induction de tumeurs. 	<ul style="list-style-type: none"> - Rein (index) Foie (descriptif) -Remplacement des cellules tubulaires proximales par des cellules caractérisées par un cytoplasme basophile et des noyaux hétérochromatiques. (images de régénération cellulaire) 	<p>NOAEC</p> <p>(absence de prolifération cellulaire) = 5 ppm (souris ♂ rein)</p> <p>(LOAEC = 30 ppm)</p>

2.4.6 Choix de la dose critique

La prolifération cellulaire (Figure 2) est mesurée par un indice de marquage (LI, ou labelling index) ; il s'agit d'une quantification précise des cellules en phase S (Templin *et al.* 1998b) par immunohistochimie à la bromodésoxyuridine.

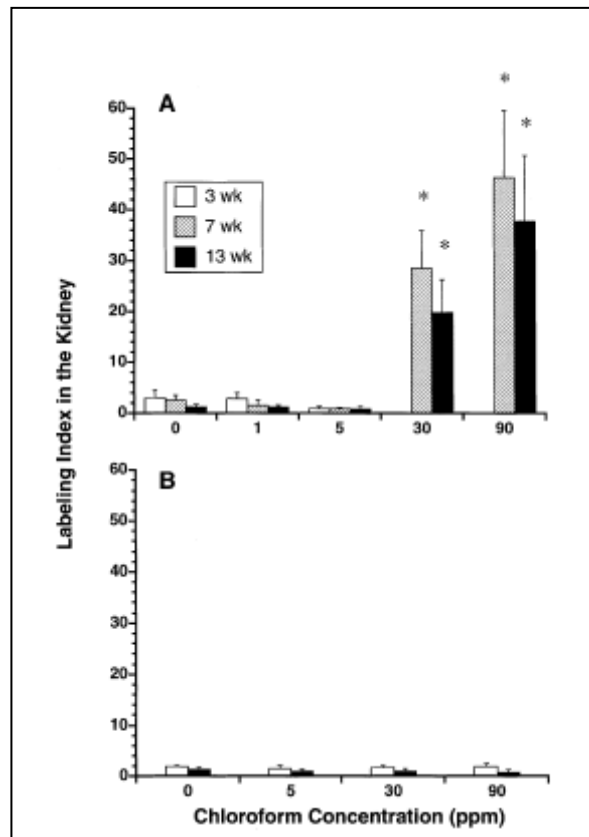


Figure 2 : Prolifération cellulaire au niveau rénal (Templin *et al.* 1998)

A= souris BDF1 mâle, B= souris BDF1 femelle

La NOAEC pour l'effet prolifération cellulaire dans les tubules du cortex rénal est de 5 ppm.

Dans cette même étude, un NOAEL de 10 ppm avait été déterminé pour la toxicité hépatique, estimé également par une augmentation de la prolifération cellulaire.

L'établissement d'une Benchmark dose n'a pas été possible pour les raisons suivantes :

- s'agissant d'une variable continue (marqueur de prolifération cellulaire), l'absence de données chiffrées ne permet pas de déterminer une benchmark dose (à moins de d'estimer les moyennes et écarts-types à partir des figures disponibles dans l'article) ;
- s'agissant de la prolifération cellulaire, la difficulté de choisir les niveaux d'effet et de réponse jugés comme néfastes.
- La possibilité qu'à partir d'une certaine dose, la prolifération cellulaire soit masquée par d'autres effets toxiques sur la cellule et entraîne, de manière artificielle, une diminution de la réponse associée à cet effet.

Ajustement au temps

Dans une étude d'une durée de 13 semaines, dans laquelle on a administré par inhalation du chloroforme à des souris B6C3F1, à des doses qui variaient de 0 à 90 ppm (1,5 à 441 mg.m⁻³), (Larson *et al.* 1996a), la prolifération cellulaire au niveau rénal chez les souris mâles a significativement augmenté aux concentrations de 30 ppm (147 mg.m⁻³) lorsque l'exposition était répartie sur 7 jours par semaine mais dès 10 ppm (49 mg.m⁻³) lorsqu'elle était répartie sur 5 jours par semaine. Par ailleurs, dans les études par voie orale, les tumeurs sont observées lorsque les animaux sont exposés par gavage et pas par l'eau de boisson, ce qui serait plutôt en faveur d'un effet pic de concentration et pas d'un cumul de dose. Par conséquent un ajustement au temps n'a pas été jugé pertinent.

Conclusion : il n'a pas été jugé nécessaire d'ajouter un facteur d'incertitude 5/7jours cependant en l'absence de données un facteur pourrait être ajouté pour l'ajustement 6h/24 heures (cf. ci-dessous).

2.4.7 Choix des facteurs d'incertitude (UF)

2.4.7.1 Etude subchronique à chronique

Dans l'étude clé sélectionnée pour la construction de la VTR de Templin *et al.* 1998, dans laquelle des souris BDF1 ont été exposées 6 heures par jour, 5 jours par semaine jusqu'à 13 semaines, la prolifération cellulaire au niveau rénale chez le mâle a été observé à 30 ppm (147 mg.m⁻³) (Templin *et al.* 1998a). Or, dans l'étude de cancérogenèse par inhalation réalisée avec la même souche de souris et dans les mêmes conditions expérimentales, des augmentations significatives de l'incidence des tumeurs rénales ont été observées à partir de 30 ppm (Nagano K *et al.* 1998; Yamamoto S *et al.* 1994). Ces souris avaient été exposées 6 heures par jour, 5 jours par semaine, pendant deux ans aux doses de 5, 30 et 90 ppm.

Conclusion : l'effet critique et la dose choisie (5 ppm) pour la construction de la VTR est donc protecteur du cancer et l'ajout d'un facteur d'incertitude « subchronique à chronique » n'est pas appliqué car des études long terme aux mêmes doses sont disponibles sur les mêmes souches animales.

2.4.7.2 Facteur d'incertitude inter-espèces

Selon les recommandations du document de référence pour « la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets cancérogène » du groupe d'expert de l'Afsset « VTR cancérogène », une valeur de 10 par défaut est choisie pour ce facteur, puisque la VTR est basée sur une étude animale.

2.4.7.3 Facteur de variabilité interindividuelle

Selon les recommandations du document de référence pour « la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets cancérogène » du groupe d'expert de l'Afsset « VTR cancérogène », une valeur de 10 par défaut est choisie pour ce facteur.

2.4.8 Calcul de la VTR

Construction de la VTR en prenant en compte l'ajustement au temps

NOAEC = 5 ppm ou 25 mg.m⁻³

- Ajustement au temps :

-à 24 h = X 6/24 (car exposition 6 heures par jours)

-à la semaine = 1

- Facteur d'ajustement inter-espèces = 10

- Facteur de variabilité interindividuelle = 10

Soit VTR chronique pour la voie inhalée = 63 µg.m⁻³

3 Conclusions

Une VTR à seuil peut être proposée pour les effets cancérogènes du chloroforme.

Effet critique	Dose critique*	UF*	VTR
Prolifération cellulaire dans les tubes rénaux proximaux chez la souris mâle BDF1 Templin <i>et al.</i> 1998 : Etude de toxicité subchronique de 13 semaines chez la souris BDF1	NOAEC = 5 ppm (25 mg.m ⁻³) Pas de détermination de BMD <u>Ajustement temporel partiel</u> (6h/24h) NOAEC_{ADJ} = 6,3 mg.m⁻³	100 UF _A 10 UF _H 10 UF _s 1	VTR = 63 µg.m⁻³

*UF_A : variabilité inter-espèces, UF_H : variabilité interindividuelle, UF_s : utilisation d'une étude subchronique
 NOAEC_{ADJ} = NOAEC ajusté au temps d'exposition

Le Tableau 4 présente la mise en perspective de la VTR proposée dans le contexte de ce travail, avec les VTR proposées par l'Ineris et par l'US EPA.

Tableau 4 : Mise en perspective de la VTR élaborée pour le chloroforme

Organismes	Valeur de la VTR	Méthode de construction
Afsset (2008)	63 µg.m ⁻³	VTR à seuil / effet précurseur NOAEC = 25 mg.m ⁻³ UF = 100
Ineris (2007)	63 µg.m ⁻³	VTR à seuil établie à partir de l'étude de Nagano <i>et al.</i> , 1998 NOAEC = 24,8 mg.m ⁻³ chez souris mâle UF = 70 après ajustement
US EPA (2001)	0,04 µg.m ⁻³ pour un risque de 10 ⁻⁶	VTR sans seuil / extrapolation voie à voie à partir de la VTR par voie orale Modèle LMS

4 Bibliographie

1. ATSDR. TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CHLOROFORM. 1-343. 1997. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
Ref Type: Report
2. Bieche, I., Narjoz, C., Asselah, T., Vacher, S., Marcellin, P., Lidereau, R., Beaune, P., and de, W., I (2007). Reverse transcriptase-PCR quantification of mRNA levels from cytochrome (CYP)1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. *Pharmacogenet. Genomics* **17**(9), 731-742.
3. Bomski, H., Sobolewska, A., and Strakowski, A. (1967). [Toxic damage of the liver by chloroform in chemical industry workers]. *Int. Arch. Arbeitsmed.* **24**(2), 127-134.
4. Choudhary, D., Jansson, I., Stoilov, I., Sarfarazi, M., and Schenkman, J. B. (2005). Expression patterns of mouse and human CYP orthologs (families 1-4) during development and in different adult tissues. *Arch. Biochem. Biophys.* **436**(1), 50-61.
5. Constan, A. A., Sprankle, C. S., Peters, J. M., Kedderis, G. L., Everitt, J. I., Wong, B. A., Gonzalez, F. L., and Butterworth, B. E. (1999). Metabolism of chloroform by cytochrome P450 2E1 is required for induction of toxicity in the liver, kidney, and nose of male mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **160**(2), 120-126.
6. Delic, J. I., Lilly, P. D., MacDonald, A. J., and Loizou, G. D. (2000). The utility of PBPK in the safety assessment of chloroform and carbon tetrachloride. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **32**(2), 144-155.
7. Ding, X., and Kaminsky, L. S. (2003). Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **43**, 149-173.
8. Gift, J. S., McGaughy, R., Singh, D. V., and Sonawane, B. (2008). Health assessment of phosgene: Approaches for derivation of reference concentration. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*
9. Golden, R. J., Holm, S. E., Robinson, D. E., Julkunen, P. H., and Reese, E. A. (1997). Chloroform mode of action: implications for cancer risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **26**(2), 142-155.
10. Hard, G. C., Boorman, G. A., and Wolf, D. C. (2000). Re-evaluation of the 2-year chloroform drinking water carcinogenicity bioassay in Osborne-Mendel rats supports chronic renal tubule injury as the mode of action underlying the renal tumor response. *Toxicol. Sci.* **53**(2), 237-244.
11. INERIS. Chloroforme - Fiche de données toxicologiques et environnementales. 2005.
Ref Type: Report
12. INERIS. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 2006.
Ref Type: Report
13. Jorgenson, T. A., Meierhenry, E. F., Rushbrook, C. J., Bull, R. J., and Robinson, M. (1985c). Carcinogenicity of chloroform in drinking water to male Osborne-Mendel rats and female B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* **5**(4), 760-769.
14. Jorgenson, T. A., Meierhenry, E. F., Rushbrook, C. J., Bull, R. J., and Robinson, M. (1985b). Carcinogenicity of chloroform in drinking water to male Osborne-Mendel rats and female B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* **5**(4), 760-769.

15. Jorgenson, T. A., Meierhenry, E. F., Rushbrook, C. J., Bull, R. J., and Robinson, M. (1985a). Carcinogenicity of chloroform in drinking water to male Osborne-Mendel rats and female B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* **5**(4), 760-769.
16. Larson, J. L., Templin, M. V., Wolf, D. C., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., Conolly, R. B., and Butterworth, B. E. (1996b). A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: implications for cancer risk assessment. *Fundam. Appl. Toxicol.* **30**(1), 118-137.
17. Larson, J. L., Templin, M. V., Wolf, D. C., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., Conolly, R. B., and Butterworth, B. E. (1996c). A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: implications for cancer risk assessment. *Fundam. Appl. Toxicol.* **30**(1), 118-137.
18. Larson, J. L., Templin, M. V., Wolf, D. C., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., Conolly, R. B., and Butterworth, B. E. (1996d). A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: implications for cancer risk assessment. *Fundam. Appl. Toxicol.* **30**(1), 118-137.
19. Larson, J. L., Templin, M. V., Wolf, D. C., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., Conolly, R. B., and Butterworth, B. E. (1996a). A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: implications for cancer risk assessment. *Fundam. Appl. Toxicol.* **30**(1), 118-137.
20. Larson, J. L., Wolf, D. C., and Butterworth, B. E. (1994c). Induced cytotoxicity and cell proliferation in the hepatocarcinogenicity of chloroform in female B6C3F1 mice: comparison of administration by gavage in corn oil vs ad libitum in drinking water. *Fundam. Appl. Toxicol.* **22**(1), 90-102.
21. Larson, J. L., Wolf, D. C., and Butterworth, B. E. (1994b). Induced cytotoxicity and cell proliferation in the hepatocarcinogenicity of chloroform in female B6C3F1 mice: comparison of administration by gavage in corn oil vs ad libitum in drinking water. *Fundam. Appl. Toxicol.* **22**(1), 90-102.
22. Larson, J. L., Wolf, D. C., and Butterworth, B. E. (1994a). Induced cytotoxicity and cell proliferation in the hepatocarcinogenicity of chloroform in female B6C3F1 mice: comparison of administration by gavage in corn oil vs ad libitum in drinking water. *Fundam. Appl. Toxicol.* **22**(1), 90-102.
23. Larson, J. L., Wolf, D. C., and Butterworth, B. E. (1995b). Induced regenerative cell proliferation in livers and kidneys of male F-344 rats given chloroform in corn oil by gavage or ad libitum in drinking water. *Toxicology* **95**(1-3), 73-86.
24. Larson, J. L., Wolf, D. C., and Butterworth, B. E. (1995a). Induced regenerative cell proliferation in livers and kidneys of male F-344 rats given chloroform in corn oil by gavage or ad libitum in drinking water. *Toxicology* **95**(1-3), 73-86.
25. Li, L. H., Jiang, X. Z., Liang, Y. X., Chen, Z. Q., Zhou, Y. F., and Wang, Y. L. (1993b). Studies on the toxicity and maximum allowable concentration of chloroform. *Biomed. Environ. Sci.* **6**(2), 179-186.
26. Li, L. H., Jiang, X. Z., Liang, Y. X., Chen, Z. Q., Zhou, Y. F., and Wang, Y. L. (1993a). Studies on the toxicity and maximum allowable concentration of chloroform. *Biomed. Environ. Sci.* **6**(2), 179-186.
27. Nagano K, Nishizawa T, Yamamoto S, and Matsushima T. Inhalation carcinogenesis studies of six halogenated hydrocarbons in rats and mice. *Advances in the prevention of occupational respiratory diseases*, 741-746. 1998. Ref Type: Generic
28. NCI. Report on carcinogenesis bioassay of chloroform. National Cancer Institute. 1976. Ref Type: Report
29. Roe, F. J., Palmer, A. K., Worden, A. N., and Van Abbe, N. J. (1979). Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. I. Long-term studies in mice. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* **2**(3), 799-819.
30. Templin, M. V., Constan, A. A., Wolf, D. C., Wong, B. A., and Butterworth, B. E. (1998d). Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF1 mice correlate with organ specificity and dose-response of tumor formation. *Carcinogenesis* **19**(1), 187-193.

31. Templin, M. V., Constan, A. A., Wolf, D. C., Wong, B. A., and Butterworth, B. E. (1998c). Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF1 mice correlate with organ specificity and dose-response of tumor formation. *Carcinogenesis* **19**(1), 187-193.
32. Templin, M. V., Constan, A. A., Wolf, D. C., Wong, B. A., and Butterworth, B. E. (1998b). Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF1 mice correlate with organ specificity and dose-response of tumor formation. *Carcinogenesis* **19**(1), 187-193.
33. Templin, M. V., Constan, A. A., Wolf, D. C., Wong, B. A., and Butterworth, B. E. (1998a). Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF1 mice correlate with organ specificity and dose-response of tumor formation. *Carcinogenesis* **19**(1), 187-193.
34. Templin, M. V., Larson, J. L., Butterworth, B. E., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., and Wolf, D. C. (1996c). A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundam. Appl. Toxicol.* **32**(1), 109-125.
35. Templin, M. V., Larson, J. L., Butterworth, B. E., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., and Wolf, D. C. (1996d). A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundam. Appl. Toxicol.* **32**(1), 109-125.
36. Templin, M. V., Larson, J. L., Butterworth, B. E., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., and Wolf, D. C. (1996a). A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundam. Appl. Toxicol.* **32**(1), 109-125.
37. Templin, M. V., Larson, J. L., Butterworth, B. E., Jamison, K. C., Leininger, J. R., Mery, S., Morgan, K. T., Wong, B. A., and Wolf, D. C. (1996b). A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundam. Appl. Toxicol.* **32**(1), 109-125.
38. Torkelson, T. R., Oyen, F., and Rowe, V. K. (1976). The toxicity of chloroform as determined by single and repeated exposure of laboratory animals. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **37**(12), 697-705.
39. Tsutsumi, M., Lasker, J. M., Shimizu, M., Rosman, A. S., and Lieber, C. S. (1989). The intralobular distribution of ethanol-inducible P450IIE1 in rat and human liver. *Hepatology* **10**(4), 437-446.
40. Tumasonis, C. F., McMartin, D. N., and Bush, B. (1987). Toxicity of chloroform and bromodichloromethane when administered over a lifetime in rats. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* **7**(4), 55-63.
41. US EPA. Toxicological review of Chloroform. 2001.
Ref Type: Report
42. Yamamoto S, Aiso S, Ikawa N, and Matsushima T (1994). carcinogenesis studies of chloroform in F344 rats and BDF1 mice. *Proceeding of the Fifty-third Annual meeting of the japanese cancer association*(Abstract).

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SOLIDARITÉS

Direction générale de la santé

0 7 1 5 6 6

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU
DEVELOPPEMENT DURABLE

Direction de la prévention des pollutions et des
risques

Paris le 26 FEV. 2007

Le Directeur général de la santé

Le Directeur de la prévention des pollutions et
des risques

à

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

COURRIER REÇU LE
01 MAR. 2007
642

Objet : Méthode d'élaboration des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour le 1,2-dichloroéthane ; le tétrachlorure de carbone ; et le chloroforme.

P.J. : Rapport d'étude INERIS n° 06CR072.doc du 11/09/2006 « Analyse des VTR relatives à la DAE de l'atelier de chlorure de vinyle monomère de l'usine Lavéra » réalisé pour le groupe ARKEMA.

Copie : INERIS

Dans le cadre d'une étude d'impact d'installation classée pour la protection de l'environnement (ICPE), les valeurs toxicologiques présentées par l'industriel ont été élaborées par l'INERIS sur sa demande.

Nous sollicitons votre analyse sur la méthode d'élaboration des valeurs toxicologiques de référence (VTR) utilisée par l'INERIS et sa conformité avec les préconisations actuelles du groupe de travail « VTR cancérigènes ». Nous vous demandons de la soumettre à des experts de ce groupe en vue d'un rendu dans un délai de 1 mois. A l'issue de ce délai, une réunion de restitution avec l'INERIS pourra être organisée.

Une réunion spécifique à l'initiative de la DGS aura lieu dans les semaines à venir en lien avec le MEDD afin de définir les modalités d'un travail sur la thématique des valeurs toxicologiques de référence associant l'Afsset, son réseau et ses partenaires européens.

Le Directeur général de la santé

Le Directeur de la prévention des pollutions et des risques

Le Chef du service politique de santé et qualité du système de santé, adjoint au Directeur général de la santé

Le directeur adjoint de la prévention des pollutions et des risques


Didier EYSSARTIER


Jean-Pierre HENRY



COURRIER REÇU LE
01 FEV. 2008

Direction générale de la santé

Sous direction *Prévention des risques liés à l'environnement et à l'alimentation*
Bureau *Environnement extérieur et produits chimiques*
 DGS/EA1 - N° 13
 Chargés du dossier : Muriel Andrieu-Semmel
 Téléphone : 01 40 56 47 19
muriel.andrieu-semmel@sante.gouv.fr

Paris, le 25 JAN 2008

Le Directeur Général de la Santé

à

La Directrice de l'Agence française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail
A l'attention de M. Rousselle
 253, avenue du général Leclerc
 94701 Maison-Alfort Cedex

Objet : Méthode d'élaboration des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour le 1,2-Dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone et le chloroforme par l'INERIS dans le cadre de la demande d'autorisation d'exploiter d'Arkema.

Réf. : Votre courrier du 27 avril 2007.

Par courrier en date du 27 avril 2007, vous me faites part des compléments qui ont été demandés à l'INERIS en vue de valider les VTR proposées pour le 1,2-Dichloroéthane, le tétrachlorure de carbone et le chloroforme.

Vous voudrez bien, compte tenu des compléments apportés par l'INERIS, me faire connaître votre avis final ou les travaux prévus, le cas échéant, en vue de statuer sur l'utilisation de ces trois valeurs dans la pratique de l'évaluation des risques sanitaires.

Jocelyne BOUDOT
 Sous-directrice de la prévention des risques
 liés à l'environnement et à l'alimentation

Annexe 2 : Suivi des actualisations du rapport

Date	Version	Description de la modification
Avril 2009	01	Rapport relatif à l'élaboration de VTR fondées sur les effets cancérogènes pour le chloroforme, le tétrachlorure de carbone et le 1,2-dichloroéthane
Juin 2017	02	Séparation du précédent rapport en 3 rapports différents : 1 par substance Pas d'actualisation de l'expertise

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)