

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie orale pour l'acide per- fluorohexanoïque (PFHxA)

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

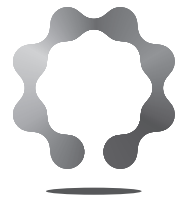
Juin 2017

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR chronique par voie orale pour l'acide per- fluorohexanoïque (PFHxA)

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Juin 2017

Édition scientifique

Le Directeur général

Maisons-Alfort, le 23 juin 2017

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

relatif à «l'élaboration de valeurs de référence chroniques par voie orale pour 4 composés perfluorés : l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA), l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS), l'acide perfluorobutanoïque (PFBA), et l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS)»

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 s'est auto-saisie le 9 juin 2015 pour la réalisation des expertises suivantes : élaboration de valeurs de référence chroniques par voie orale pour les composés perfluorés suivants : l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA, CAS n° 307-24-4), l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS, CAS n°355-46-4), l'acide perfluorobutanoïque (PFBA, CAS n°375-22-4), et l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS, CAS n°375-73-5).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le présent avis d'expertise fait suite aux travaux de l'Agence sur les composés perfluorés ayant donné lieu à un rapport publié en 2015 (Anses, 2015b), réalisé dans le cadre de la saisine de la Direction générale de la santé de juin 2009 relative aux substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes (PE) (Saisine «n° 2009-SA-0331»).

Ce rapport a mis en évidence 4 perfluorés prioritaires : l'acide perfluorobutanoïque (PFBA), l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS), l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA) et l'acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS). Cette sélection a été faite selon plusieurs critères dont le statut réglementaire (REACH et réglementation sectorielle), le corpus de données disponibles pour chacun des composés, l'utilisation et l'évolution de l'utilisation des composés, les valeurs de référence déjà disponibles etc... Ces quatre composés perfluorés ont donc fait l'objet de travaux distincts dans l'objectif de leur attribuer des valeurs toxicologiques de référence (VTR).

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, 2015a).

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

Une VTi pourra être proposée lorsque les conditions nécessaires à l'élaboration d'une VTR ne sont pas remplies et qu'une évaluation quantitative des risques (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 VTi par des VTR si de nouvelles données le permettent ;
2. en cas de **contraintes de temps et/ou de ressources**. Dans ce cas, la VTi serait élaborée au mieux dans le temps imparti afin de répondre aux impératifs d'action des décideurs, puis un travail complémentaire sera le cas échéant réalisé afin de proposer une VTR.

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 pour répondre à la situation et au contexte spécifiques qui ont justifié sa construction. 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 cible pour laquelle elle est destinée. Le mode de construction des VTi dépend des données disponibles sur les mécanismes d'action biologique des substances et d'hypothèses communément admises. On distingue ainsi des VTi à seuil de dose et des VTi sans seuil de dose. Une VTi est élaborée en suivant les mêmes étapes de construction qu'une VTR.

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

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

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

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (appelé ci-après CES « Substances »). Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre juin 2015 et février 2017. Ils ont été adoptés par le CES « Substances » réuni le 23 février 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 rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

■ Acide perfluorobutanoïque (PFBA) - CAS n°375-22-4

- Toxicocinétique

Au regard des T_{max}^1 et des biodisponibilités calculées dans des expérimentations par voie orale chez le rat et la souris, l'absorption du PFBA semble à la fois rapide et relativement complète. Suite à une exposition par voie orale, les faibles valeurs des volumes de distribution indiquent que le PFBA est très peu distribué dans les tissus. L'ensemble des données converge vers une élimination rapide du PFBA. Chez toutes les espèces étudiées (rat, souris, singe), l'urine est la voie d'excrétion principale. L'élimination *via* les fèces est quant à elle négligeable.

- Toxicité

A ce jour, trois études animales de toxicité par exposition répétée (28 jours, 90 jours, et toxicité sur le développement) sont disponibles pour évaluer ce composé. Elles ont notamment mis en évidence des effets sur la thyroïde, sur le développement, et sur le foie.

Concernant les effets sur la thyroïde, dans les études 28 jours et 90 jours de Butenhoff *et al.* (2012), est observée, en plus d'une augmentation du poids absolu de la thyroïde, une diminution des taux sériques de T4 totale et de T4 libre (sans modification des taux de TSH²).

Concernant les effets sur le développement, un retard d'ouverture des yeux statistiquement significatif mais modéré est observé, avec une relation dose réponse peu robuste.

Concernant les effets hépatiques, une augmentation du poids absolu (+ 45% dans l'étude 28 jours, et + 23% dans l'étude 90 jours, aux plus fortes doses) et relatif du foie est observée dans les deux études de Butenhoff *et al.* (2012), associée à des hypertrophies hépatocellulaires (uniquement minimales dans l'étude 28 jours, minimales à légères dans l'étude 90 jours). Dans l'étude 28 jours et l'étude sur le développement, une diminution statistiquement significative du cholestérol est

¹ Tmax : temps d'atteinte de la concentration maximale

² TSH : Thyroestimuline

également observée. À l'exception de cette diminution du cholestérol, toutes les valeurs des paramètres biochimiques mesurés sont dans la gamme de la normalité, c'est-à-dire usuellement observées chez les rats Sprague-Dawley. Elles ne présentent donc pas de pertinence toxicologique. Dans les deux études de toxicité répétée, les auteurs ont également mesuré les niveaux hépatiques de transcrits d'ARNm d'intérêt. Un certain nombre de ces transcrits (Acox, CYP4A1...), marqueurs d'une activation de PPAR α ³, augmente. Est également observée une augmentation des niveaux du CYP2B2, marqueur de l'activation de CAR⁴. Enfin, une diminution du niveau hépatique du CYP1A1 est également observée, suggérant une diminution de l'activité de l'Ahr⁵.

- Construction
 - Choix de l'effet critique

- **Effets thyroïdiens**

Le CES ne considère pas pertinent de construire une VTR basée sur les modifications de concentrations hormonales mentionnées plus haut, les auteurs eux-mêmes émettant un doute sur la fiabilité des résultats obtenus (problème dans la réalisation des mesures).

- **Effets sur le développement**

Les auteurs n'ont pas détaillé leur méthodologie pour évaluer le retard d'ouverture des yeux. De plus, celui-ci n'est pas corroboré par d'autres critères de retards de développement (comme par exemple un retard de sortie des incisives). Le CES ne considère pas pertinent de construire une VTR basée sur ces modifications.

- **Effets hépatiques**

Compte tenu des différences de mécanisme d'action et des conséquences de l'activation des PPAR α entre l'Homme et les rongeurs, établis sur la base de souris au PPAR α humanisé, cet effet n'est pas jugé transposable à l'Homme (Hall *et al.*, 2012). En conséquence, les modifications des transcrits relevant d'une activation des PPAR α ne peuvent donc pas soutenir l'élaboration d'une valeur de référence sur des effets hépatiques (Hall *et al.*, 2012). De même que pour PPAR α , il semble exister de fortes différences entre le CAR murin et humain, que ce soit au niveau de ses ligands ou des réponses médiées par ce récepteur, la société européenne de pathologie toxicologique (ESTP) considérant même leur activation comme un effet non-néfaste (Hall *et al.*, 2012). En particulier, la réponse concernant la lipogenèse semble différente entre l'Homme et les rongeurs. L'extrapolation à l'Homme de ces observations faites sur un modèle rongeur semble donc discutable dans l'objectif de les retenir comme effet critique (Lynch *et al.*, 2014 ; Yang *et al.*, 2013 ; Hall *et al.*, 2012).

Selon les documents de l'Agence américaine de protection de l'environnement (U.S. EPA) (2002) et de l'ESTP (Hall *et al.*, 2012), lors d'une hypertrophie hépatocytaire, en l'absence de modifications histologiques, des preuves de dommages hépatocytaires caractérisés par une modification dose dépendante, biologiquement significative et cohérente d'au moins deux paramètres hépatiques sont nécessaires pour caractériser un effet néfaste pour le foie. Ces

³ PPAR α : Peroxisome proliferator-activated receptor alpha. Récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes

⁴ CAR : Constitutive Androstane Receptor. Récepteur constitutif des androstanes

⁵ AhR : Aryl Hydrocarbon Receptor. Récepteur aux hydrocarbures aromatiques

conditions ne sont donc pas remplies dans le cas présent. Selon ces critères, les effets hépatiques ne devraient donc pas être considérés comme néfastes.

Néanmoins, bien que pris indépendamment les uns des autres, aucun ne soit suffisant pour construire une VTR (ampleur de la réponse) ou soit totalement transposable à l'Homme, de nombreux effets (hypertrophie et signes fonctionnels) liés aux métabolismes hépatique et lipidique sont observés suite à une exposition au PFBA. Par ailleurs, même s'il s'agit d'une étude mécanistique, des nécroses hépatiques minimales à légères ont été observées, en plus d'hypertrophies, chez les souris mâles de type sauvage exposées 28 jours au PFBA dans l'étude de Foreman *et al.* (2009). Enfin, il apparaît également nécessaire de prendre en compte dans cette analyse les connaissances existantes sur l'ensemble de la famille des perfluorés, et notamment les deux composés les plus étudiés de cette famille, à savoir le PFOS et le PFOA. Une toxicité hépatique clairement établie pour ces deux composés, allant jusqu'à l'apparition d'adénomes hépatocytaires chez l'animal, ne peut pas être exclue chez l'Homme (EFSA, 2008 ; U.S. EPA, 2016a, 2016b).

Au regard de tous ces éléments, le CES a décidé de retenir les effets hépatiques comme effet critique. Considérant les doutes existant sur le choix de l'effet critique et son caractère néfaste, le choix a été fait de construire une VTi pour le PFBA.

- Choix de l'étude clé

L'étude subchronique (90 jours), ayant la modalité d'exposition la plus longue parmi les études disponibles sur ce composé, a été retenue pour le choix du point de départ (Butenhoff *et al.* 2012).

- Choix de la dose critique

Au regard de l'ensemble des effets apparaissant à 30 mg/kg/j dans cette étude (augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie, hypertrophie hépatocellulaire, diminution du transcrite d'ARNm marqueur de l'AhR, ...), cette dose a été considérée comme le LOAEL⁶. Le NOAEL⁷, dose directement inférieure dans l'étude de 6 mg/kg/j est retenue comme dose critique.

- Ajustements

Dans le but de réduire le degré d'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine (HED), un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

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

$$\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 6,0 \text{ mg / kg / j} \times \left(\frac{0,523 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 1,764 \text{ mg / kg / j}$$

- Choix des facteurs d'incertitude

⁶ LOAEL : Lowest Observed Adverse Effect Level (Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)

⁷ NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)

Le calcul de la VTi à partir du NOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

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

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

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

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

Il s'agit d'une étude subchronique, les animaux ayant été exposés 90 jours. Pour prendre en compte d'éventuels effets survenant à des doses plus faibles après des expositions plus longues, il a été considéré pertinent d'appliquer un UF_S de 3.

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

La construction de la VTi est basée ici sur un NOAEL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les trois études animales de toxicité par exposition répétée (28 jours, 90 jours, et toxicité sur le développement) disponibles sur le PFBA sont suffisantes pour évaluer la toxicité du composé.

Un facteur d'incertitude global de 75 est donc utilisé pour la construction de la VTi du PFBA.

- Proposition de VTi chronique par ingestion

$$VTi = \frac{1,764 \text{ mg/kg/j}}{75} = 0,0235 \cong 0,024 \text{ mg/kg/j}$$

■ Acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS) - CAS n°355-46-4

- Toxicocinétique

Aucune donnée sur la toxicocinétique du PFHxS n'est disponible.

- Toxicité

De nombreuses études chez l'Homme sont disponibles pour évaluer la toxicité du PFHxS, mais ne permettent pas de dériver de VTR. De plus, à ce jour seule une étude de toxicité par doses répétées combinée avec un test de toxicité sur la reproduction et le développement (OCDE 422) permet d'évaluer ce composé (Butenhoff *et al.*, 2009). Elle a notamment mis en évidence des effets sur la thyroïde et le foie.

Concernant les effets sur la thyroïde, une augmentation des hypertrophies/hyperplasies thyroïdiennes est observée.

Concernant les effets hépatiques, une augmentation du poids absolu et relatif du foie aux deux plus fortes doses (+ 20% et 56% pour le poids absolu, pas de données pour les poids relatifs) associée à des hypertrophies hépatocellulaires (9/10 rats, 8 minimales, 1 légère à 3 mg/kg/j et 10/10 rats, 4 minimales, 5 légères et 1 moyenne à 10 mg/kg/j) est observée. Une augmentation statistiquement significative de la phosphatase alcaline (ALP) (+ 37%) est observée à 10 mg/kg/j.

Une augmentation statistiquement significative de l'albumine (5%) et du ratio albumine/globuline (19%), ainsi qu'une diminution du cholestérol (- 42%) et des triglycérides (- 68%) sont également observées à la plus forte dose, bien que la signification toxicologique de ces modifications soit discutable.

- Construction
 - Choix de l'effet critique

- **Effets thyroïdiens**

Selon les auteurs, l'augmentation des hypertrophies/hyperplasies serait la conséquence de l'hypertrophie hépatique. L'absence de test statistique et de dosages hormonaux ne permet pas d'étayer cet argument mécanistique. Sans confirmation du mécanisme d'action, l'hypertrophie thyroïdienne apparaît trop peu robuste pour pouvoir construire une valeur de référence.

- **Effets hépatiques**

Selon les documents de l'U.S. EPA (2002) et de l'ESTP (Hall *et al.* 2012), lors d'une hypertrophie hépatocytaire, en l'absence de modifications histologiques, des preuves de dommages hépatocytaires caractérisés par une modification dose dépendante, biologiquement significative et cohérente d'au moins deux paramètres hépatiques sont nécessaires pour caractériser un effet néfaste sur le foie. Ces conditions ne sont donc pas remplies dans le cas présent. Selon ces critères, les effets hépatiques ne devraient donc pas être considérés comme néfastes.

Néanmoins, bien que pris indépendamment les uns des autres, aucun ne soit suffisant pour construire une VTR (ampleur de la réponse) ou soit totalement transposable à l'Homme, de nombreux effets (hypertrophie et signes fonctionnels) liés aux métabolismes hépatique et lipidique sont observés suite à une exposition au PFHxS. Par ailleurs, il apparaît également nécessaire de prendre en compte dans cette analyse les connaissances existantes sur l'ensemble de la famille des perfluorés, et notamment les deux composés les plus étudiés de cette famille, à savoir le PFOS et le PFOA. Une toxicité hépatique clairement établie pour ces deux composés, allant jusqu'à l'apparition d'adénomes hépatocytaires chez l'animal, ne peut pas être exclue chez l'Homme (EFSA, 2008 ; U.S. EPA, 2016a, 2016b).

Au regard de tous ces éléments, le CES a décidé de retenir les effets hépatiques comme effet critique. Considérant les doutes existant sur le choix de l'effet critique et son caractère néfaste, le choix a été fait de construire une VTi pour le PFHxS.

- Choix de l'étude clé

Une seule étude expérimentale est disponible pour la construction d'une VTi (Butenhoff *et al.*, 2009). Elle suit les lignes directrices OCDE 422 (Étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement), et a donc été retenue comme étude clé.

- Choix de la dose critique

Au regard de l'ensemble des effets apparaissant à 3 mg/kg/j dans cette étude (augmentation statistiquement significative du poids absolu et relatif du foie, hypertrophie hépatocellulaire chez 9 rats sur 10), cette dose a été considérée comme le LOAEL.

Le NOAEL, dose directement inférieure dans l'étude de 1 mg/kg/j est donc retenue comme dose critique.

○ Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

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

$$\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 1,0 \text{ mg / kg / j} \times \left(\frac{0,490 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 0,289 \text{ mg / kg / j}$$

○ Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTi à partir du NOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

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

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

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

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

Dans l'étude de Butenhoff *et al.* (2009), les rats mâles ont été exposés au minimum 42 jours. En conséquence, il a été considéré pertinent d'appliquer un UF_S de 3.

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

La construction de la VTi est basée ici sur un NOAEL, donc un UF_{B/L} spécifique n'est pas nécessaire.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Une seule étude expérimentale est disponible pour évaluer la toxicité du PFHxS, mais elle combine la toxicité par doses répétées et la reproduction/toxicité développementale. De plus, de nombreuses études chez l'Homme sont disponibles sur ce composé. En conséquence, le CES a considéré qu'un UF_D n'était pas nécessaire.

Un facteur d'incertitude global de 75 est donc utilisé pour la construction de la VTi du PFHxS.

○ Proposition de VTi chronique par ingestion

$$VTi = \frac{0,289 \text{ mg/kg/j}}{75} = 0,0038 \cong 0,004 \text{ mg/kg/j}$$

■ **Acide perfluorobutane sulfonique (PFBS) - CAS n°375-73-5**

- Toxicocinétique

Par voie orale, les valeurs de T_{max} suggèrent une absorption rapide du PFBS.

Le calcul des biodisponibilités chez les mâles et les femelles à partir des données disponibles ne permettent cependant pas de conclure quant à l'importance de l'absorption du PFBS par voie orale chez les rats.

Que ce soit chez les singes ou les rats, les demi-vies d'élimination sériques rapportées dans les études disponibles indiquent que le métabolisme du PFBS chez les mâles semble plus faible que chez les femelles.

L'urine est la voie majeure d'élimination du composé, que ce soit par voie orale ou par voie intraveineuse. De plus, cette élimination est rapide.

- Toxicité

A ce jour, deux études animales de toxicité par exposition répétée (90 jours et 2-génération) permettent d'évaluer ce composé. Elles ont notamment mis en évidence des effets rénaux et hépatiques. Les effets rénaux sont les plus reproductibles dans les études disponibles : une hyperplasie tubulaire est en effet observée dans l'étude 90 jours disponible et dans l'étude deux générations, à la fois chez les parents et chez les petits de la génération F1 (Lieder *et al.*, 2009a, 2009b).

- Construction

- Choix de l'effet critique

Le CES a donc retenu les effets sur le rein comme effet critique. Le CES souligne que ce choix protégera des effets potentiels observés au niveau hépatique.

- Choix de l'étude clé

Bien que l'hyperplasie tubulaire soit également observée dans l'étude par exposition subchronique (Lieder *et al.*, 2009a), l'étude clé retenue est l'étude deux générations (pour les effets observés chez la génération F0) (Lieder *et al.*, 2009b). Les effets rénaux sont plus détaillés par les auteurs dans cette dernière.

- Choix de la dose critique

Les données expérimentales établies sur l'hyperplasie tubulaire ont pu être modélisées à l'aide du logiciel Proast afin d'établir une Benchmark dose (BMD). Il est à noter que seuls les résultats aux deux plus fortes doses étaient fournis par les auteurs de la publication, et ont donc pu être utilisés pour la modélisation.

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin, appelé Benchmark Response (BMR). Ce BMR correspond à un excès de risque de 10%, recommandé par l'Anses et l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) pour les données quantales (EFSA, 2017).

Dans le cas du PFBS, les données chez les femelles ont été choisies, celles-ci apparaissant plus sensibles pour cet effet.

Les valeurs retenues sont les suivantes :

$$\text{BMD}_{10\%} : 40,6 \text{ mg/kg/j}$$

$$\text{BMD}_{10\%L_{95\%}} : 24 \text{ mg/kg/j}$$

- Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

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

$$\text{BMD}_{10\%L_{95\% \text{ HED}}} = 24 \text{ mg/kg/j} \times \left(\frac{0,285 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 6,06 \text{ mg/kg/j}$$

- Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir de la $\text{BMD}_{10\%L_{95\% \text{ HED}}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

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

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

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

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 3

L'étude clé retenue étant une étude 2-génération où les animaux ont été exposés 70 jours, et aucune étude par exposition chronique n'étant disponible, il a été décidé d'appliquer un UF_S de 3.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL ou d'un NOAEL ($\text{UF}_{B/L}$) : 1

La construction de la VTR est basée ici sur une BMDL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les données toxicologiques disponibles sur le PFBS sont jugées suffisantes pour évaluer la toxicité du composé.

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

- Proposition de VTR chronique par ingestion

$$\text{VTR} = \frac{6,06 \text{ mg/kg/j}}{75} = 0,081 \cong \mathbf{0,08 \text{ mg/kg/j}}$$

- Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR chronique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données :

Moyen : les données toxicologiques sont globalement suffisantes pour évaluer ce composé. Cependant, la plupart des études disponibles, bien que de bonne qualité, ont été produites par le groupe de Butenhoff et collaborateurs (Bijland *et al.*, 2011, Lieder *et al.*, 2009a & b, Olsen *et al.*, 2009).

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action :

Moyen : l'hyperplasie tubulaire est un effet observé dans toutes les études ayant évalué la toxicité générale de ce composé. Néanmoins, cet effet est généralement peu discuté par les auteurs.

- Niveau de confiance dans le choix de l'étude clé :

Fort : il s'agit d'une étude bien détaillée qui suit les lignes directrice OCDE et les bonnes pratiques de laboratoire.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :

Moyen : une BMD a pu être construite, mais uniquement sur deux doses. Les résultats aux deux plus faibles doses n'ont en effet pas été présentés par les auteurs.

Le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **moyen**.

■ **Acide perfluorohexanoïque (PFHxA) - CAS n° 307-24-4**

- Toxicocinétique

Suite à une exposition par voie orale, l'absorption du PFHxA semble rapide, avec un T_{max} d'environ 1 heure.

Concernant la distribution systémique du PFHxA, une étude par voie intraveineuse semble montrer des différences entre mâles et femelles, avec une demi-vie sérique plus importante chez les mâles. L'étude par voie orale, cependant, ne rapporte pas une telle différence entre mâles et femelles.

Que ce soit après administration par voie orale ou par voie intraveineuse, le PFHxA est excrété rapidement, et majoritairement dans l'urine.

- Toxicité

Les études disponibles sur le PFHxA ont mis en évidence différents effets, notamment aux niveaux hépatique et rénal.

Au niveau hépatique, une augmentation du poids absolu et relatif du foie associée à une hypertrophie hépatocellulaire et une augmentation statistiquement significative des aspartate aminotransférases (ASAT) et alanine aminotransférases (ALAT) sont observées dans les deux études par exposition subchronique disponibles.

Concernant les effets sur le rein, l'étude par exposition chronique montre une nécrose papillaire et une dégénérescence tubulaire chez les femelles à 200 mg/kg/j (Klaunig *et al.*, 2015). Ces lésions sont associées à une augmentation statistiquement significative du volume urinaire et une diminution statistiquement significative de la gravité spécifique à la même dose chez les femelles à 26 semaines de traitement.

- Construction

- Choix de l'effet critique

▪ **Effets hépatiques**

Selon l'U.S. EPA (2002), les ALAT et les ASAT doivent être augmentées au minimum d'un facteur 2 ou 3 pour être considérées pertinentes, ce qui n'est pas le cas dans ces deux études. De plus, l'étude par exposition chronique ne montre pas d'augmentation de ces deux paramètres.

▪ **Effets rénaux**

Au regard de la sévérité des lésions observées au niveau rénal (nécrose papillaire et dégénérescence tubulaire), le CES a décidé de les retenir comme effet critique. Le CES souligne que ce choix protégera des potentiels effets observés au niveau hépatique.

○ Choix de l'étude clé

L'étude clé retenue est l'étude de Klaunig *et al.* (2015), la seule étude disponible pour une exposition chronique (2 ans). Il s'agit d'une étude d'assez bonne qualité, mais qui ne suit pas les lignes directrices de l'OCDE. Il est important de noter qu'un nombre important d'animaux sont également morts avant la fin de l'étude, indépendamment des effets toxiques de la substance.

○ Choix de la dose critique

Du fait de l'absence de relation dose-réponse (effet apparaissant à la plus forte dose), une BMD n'a pas pu être construite. En conséquence, le NOAEL est la dose directement inférieure au LOAEL identifié, à savoir 200 mg/kg/j. Le NOAEL est donc de 30 mg/kg/j.

○ Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

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

$$\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 30 \text{ mg/kg/j} \times \left(\frac{0,338 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 7,91 \text{ mg/kg/j}$$

○ Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir du NOAEL_{HED} a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

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

L'ajustement allométrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

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

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 1

L'étude clé retenue étant une étude chronique, un UF_S n'est pas nécessaire.

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

La construction de la VTR est basée ici sur un NOAEL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les données toxicologiques disponibles sur le PFHxA sont suffisantes pour évaluer la toxicité du composé. Un UF_D n'est donc pas nécessaire.

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

- Proposition de VTR chronique par ingestion

$$VTR = \frac{7,91 \text{ mg/kg/j}}{25} = 0,316 \cong 0,32 \text{ mg/kg/j}$$

- Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR chronique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données :

Fort : les données toxicologiques sont suffisantes pour évaluer ce composé. Les études disponibles sont de bonne qualité.

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action :

Moyen : c'est un effet suffisamment robuste pour construire une VTR. Il n'est cependant retrouvé que chez les femelles, à la plus forte dose, sans relation dose réponse identifiable.

- Niveau de confiance dans le choix de l'étude clé :

Moyen : il s'agit d'une étude bien détaillée mais qui ne suit pas les lignes directrice et ne précise pas le respect des bonnes pratiques de laboratoire. Le nombre d'animaux par dose est important. Les écarts entre les doses de l'essai sont cependant assez élevés, et un nombre important d'animaux sont morts au cours de l'étude.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :

Moyen : aucune relation dose réponse n'est identifiable. Une BMD n'a pas pu être construite, mais un NOAEL a pu être identifié.

Le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **moyen**.

Les rapports ont été validés à l'unanimité par les experts présents (16 experts présents).

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 « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » qui portent sur l'élaboration de valeurs référence par voie orale pour les 4 perfluorés évalués.

Concernant le PFBA et le PFHxS, considérant les doutes existant sur le choix de l'effet critique et son caractère néfaste, le choix a été fait de construire une Valeur Toxicologique Indicative (VTi). Une VTi est construite par l'Anses lorsque toutes les conditions nécessaires à la construction d'une VTR ne sont pas réunies (insuffisance des données, doute sur le caractère néfaste de l'effet et/ou contraintes de temps et/ou de ressources). Cette approche pragmatique vise à répondre de façon transitoire à l'objectif de l'évaluation des risques sanitaires dans l'attente de données

qualitatives et/ou quantitatives suffisantes, et peut donc contribuer à répondre aux attentes des gestionnaires de risque en présence de situations d'exposition documentées. Cette VTi ne peut être utilisée que pour répondre à une situation et un contexte spécifiques qui ont justifié sa construction.

PFBA :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets hépatiques Butenhoff <i>et al.</i> , 2012	NOAEL = 6 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 1,764 mg/kg/j	75 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 3	VTi = 0,024 mg/kg/j

PFHxS :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets hépatiques Butenhoff <i>et al.</i> , 2009	NOAEL = 1 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED} = 0,289 mg/kg/j	75 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 3	VTi = 0,004 mg/kg/j

Pour le PFBS et le PFHxA, des VTR ont été construites :

PFBS :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets rénaux (Hyperplasie tubulaire) Lieder <i>et al.</i> , 2009b	BMD _{10%} L _{95%} = 24 mg/kg/j	75 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 3	VTR = 0,08 mg/kg/j
	<u>Ajustement allométrique :</u> BMD _{10%} L _{95%} HED = 6,06 mg/kg/j		Niveau de confiance Moyen

PFHxA :

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	Valeur de référence
Effets rénaux (Nécrose papillaire et dégénérescence tubulaire) Klaunig <i>et al.</i> , 2015	NOAEL = 30 mg/kg/j <u>Ajustement allométrique :</u> NOAEL _{HED} = 7,91 mg/kg/j	25 UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 1	VTR = 0,32 mg/kg/j
			Niveau de confiance Moyen

Dr Roger GENET

MOTS-CLÉS

Valeur toxicologique de référence, VTR, Voie orale, chronique, Valeur Toxicologique Indicative, VTi, Acide perfluorobutanoïque, PFBA, Acide perfluorobutane sulfonique, PFBS, Acide perfluorohexanoïque, PFHxA, Acide perfluorohexane sulfonique, PFHxS
Toxicological reference value, TRV, Perfluorobutyrate, Perfluorobutane sulfonate, Perfluorohexanoic acid, Perfluorohexane sulfonate, oral route, chronic

BIBLIOGRAPHIE

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), (2015a) Valeurs toxicologiques de référence (VTR), Guide d'élaboration de VTR.

Anses, (2015b). RAPPORT de l'Anses sur les perfluorés. TOME 1: Connaissances relatives à la réglementation, à l'identification, aux propriétés chimiques, à la production et aux usages des composés de la famille des perfluorés ; TOME 2: Connaissances relatives aux données de contamination et aux expositions par des composés de la famille des perfluorés ; TOME 3: Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des perfluorés.

Butenhoff J.L., Chang S.-C., Ehresman D. J., York R.G., (2009) Evaluation of potential reproductive and developmental toxicity of potassium perfluorohexanesulfonate in Sprague Dawley rats. *Reproductive Toxicology* 27 pp 331–341

Butenhoff J L., Bjorkb J A., Chang S-C, Ehresman D J., Parker G A., Das K, Lau C, Lieder P H., van Otterdijke F M., Wallace K B. (2012) Toxicological evaluation of ammonium perfluorobutyrate in rats: Twenty-eight-day and ninety-day oral gavage studies. *Reproductive Toxicology* 33, 513–530

Chengelis C. P., Kirkpatrick J. B., Radovsky A., Shinohar M. (2009) A 90-day repeated dose oral (gavage) toxicity study of perfluorohexanoic acid (PFHxA) in rats (with functional observational battery and motor activity determinations). *Reproductive Toxicology* 27 342–351.

European Food Safety Authority (EFSA) (2008) Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain (Question No EFSA-Q-2004-163). *The EFSA Journal* 653, 1-131

EFSA Scientific Committee, Hardy A, Benford D, Halldorsson T, Jeger MJ, Knutsen KH, More S, Mortensen A, Naegeli H, Noteborn H, Ockleford C, Ricci A, Rychen G, Silano V, Solecki R, Turck D, Aerts M, Bodin L, Davis A, Edler L, Gundert-Remy U, Sand S, Slob W, Bottex B, Abrahantes JC, Marques DC, Kass G and Schlatter JR, 2017. Update: Guidance on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal* 2017;15(1):4658, 41 pp. doi:10.2903/j.efsa.2017.4658

Foreman J E., Chang S-C, Ehresman D J., Butenhoff J L., Anderson C R., Palkar P S., Kang B-H, Gonzalez F J., Peters J M. (2009). Differential Hepatic Effects of Perfluorobutyrate Mediated by Mouse and Human PPAR- α . *Toxicological Sciences* 110(1), 204–211

Hall AP., Elcombe CR., Foster JR., Harada T., Kaufmann W., Knippel A., Kuttler K., Malarkey DE., Maronpot RR., Nishikawa A., Nolte T., Schulte A., Strauss V., York MJ. (2012) Liver Hypertrophy:

A Review of Adaptive (Adverse and Non-adverse) Changes - Conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. *Toxicologic Pathology*, 40: 971-994.

Klaunig J. E., Shinohara M., Iwai H., Chengelis C. P., Kirkpatrick J. B., Wang Z. And Bruner R. H. (2015). Evaluation of the Chronic Toxicity and Carcinogenicity of Perfluorohexanoic Acid (PFHxA) in Sprague-Dawley Rats. *Toxicologic Pathology*, 43: 209-220.

Lieder P.H., Chang S-C., York R.G., Butenhoff J.L. (2009a) Toxicological evaluation of potassium perfluorobutanesulfonate in a 90-day oral gavage study with Sprague–Dawley rats. *Toxicology* 255; pp 45–52

Lieder P.H., York R.G., Hakes D.C., Chang S-C., Butenhoff J.L. (2009b) A two-generation oral gavage reproduction study with potassium perfluorobutanesulfonate (K+PFBS) in Sprague Dawley rats. *Toxicology* 259; pp 33–45

Lynch C., Pan Y., Li L., Heyward S., Moeller T., Swaan PW., Wang H. (2014) Activation of the Constitutive Androstane Receptor Inhibits Gluconeogenesis without Affecting Lipogenesis or Fatty Acid Synthesis in Human Hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* ; 279(1): 33–42

Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2010) WHO Human Health Risk Assessment Toolkit: Chemical Hazards. IPCS harmonization project document no. 8. (OMS, Genève) 87p.

United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (2002) Hepatocellular hypertrophy. HED guidance document #G2002.01. Technical Report.

U.S. EPA (2016a) Health Effects Support Document for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA Document Number: 822-R-16-003

U.S. EPA (2016b) Health Effects Support Document for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). EPA Document Number: 822-R-16-002

Yang H., Wang H. (2014) Signaling control of the constitutive androstane receptor (CAR). *Protein Cell*, 5(2):113–123

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

Elaboration de VTR chronique par voie orale pour l'acide perfluorohexanoïque
(PFHxA)
(CAS n° 307-24-4)

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

Saisine « 2015-SA-0127 »
Saisine liée « 2009-SA-0331 »

RAPPORT **d'expertise collective**

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

Février 2017

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, Acide perfluorohexanoïque, PFHxA, voie orale, chronique,
Toxicological reference value, TRV, Perfluorohexanoic acid, oral route, chronic

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts externes, 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.

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » – 11 juin 2015, 14 janvier, 15 septembre, 20 octobre, 9 décembre 2016 et 23 février 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 IARC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

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

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

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

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

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

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

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

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

M. Alain SIMONNARD – 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

RAPPORTEURS

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

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

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

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Aurélie MATHIEU-HUART – Chef de projets scientifiques – Anses

Mme Pauline GUILLOU – Chargée de projets scientifiques – Anses

Contribution scientifique

Mme Pauline GUILLOU – Chargée de projets scientifiques – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

Sigles et abréviations	8
Liste des tableaux.....	9
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	10
1.1 Contexte.....	10
1.2 Objet de la saisine.....	10
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	11
1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt	11
2 Informations générales.....	12
2.1 Identification de la substance	12
2.2 Propriétés physico-chimiques	12
3 Synthèse des données toxicologiques.....	13
3.1 Toxicocinétique.....	13
3.1.1 Absorption	13
3.1.2 Distribution	13
3.1.3 Métabolisme.....	13
3.1.4 Excrétion	13
3.2 Toxicité aiguë	13
3.3 Irritation	14
3.4 Sensibilisation.....	14
3.5 Toxicité subchronique et chronique.....	14
3.5.1 Données chez l'Homme.....	14
3.5.2 Données chez l'animal.....	14
3.5.2.1 Effets hépatiques.....	15
3.5.2.2 Hématologie	16
3.5.2.3 Effets respiratoires	16
3.5.2.4 Effets rénaux	17
3.6 Effets sur la reproduction et le développement.....	17
3.6.1 Données chez l'Homme.....	17
3.6.2 Données chez l'animal.....	17
3.7 Génotoxicité	18
3.8 Cancérogénicité	18

3.9 Mécanisme d'action	18
3.10 Populations sensibles	19
4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence	20
5 Proposition de VTR chronique par voie orale.....	21
5.1 Choix de l'effet critique.....	21
5.2 Analyse des VTR existantes.....	21
5.3 Construction de VTR.....	21
5.3.1 Choix de l'étude clé.....	21
5.3.2 Choix de la dose critique.....	22
5.3.3 Ajustements	22
5.3.4 Choix des facteurs d'incertitude.....	22
5.3.5 Proposition de VTR chronique par ingestion	23
5.3.6 Niveau de confiance	23
6 Conclusions du CES.....	24
7 Bibliographie.....	25

Sigles et abréviations

Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ALP	Phosphatase Alcaline
ALAT	Alanine Aminotransférase
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ASAT	Aspartate Aminotransférase
BMD	Benchmark Dose
BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose
CES	Comité d'Experts Spécialisé
GD	Gestation Day (= jour de gestation)
GT	Groupe de Travail
HED	Human Equivalent Dose (= Dose équivalente humaine)
LDH	Lactate Deshydrogénase
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (= Dose minimale entraînant un effet néfaste observé)
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (= Dose maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economiques
PFBA	Acide perfluorobutanoïque
PFBS	Acide perfluorobutane sulfonique
PFHxA	Acide perfluorohexanoïque
PFHxS	Acide perfluorohexane sulfonique
PFOA	Acide perfluorooctanoïque
PFOS	Sulfonate de perfluorooctane
UF	Uncertainty Factor (= Facteur d'incertitude)
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
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency (États-Unis)
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification de la substance	12
Tableau 2 : Propriétés physicochimiques	12
Tableau 3 : VTR chronique par voie orale pour le PFHxA	24

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Une valeur toxicologique de référence, ou VTR, est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action 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 (Afsset, 2010).

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.

1.2 Objet de la saisine

Ce travail fait suite aux travaux de l'Agence sur les perfluorés ayant donné lieu à un rapport publié en 2015 (Anses, 2015b), réalisé dans le cadre de la saisine de la Direction générale de la santé de juin 2009 relative aux substances reprotoxiques et/ou perturbatrices endocriniennes (PE) (Saisine «n° 2009-SA-0331»).

Parmi l'ensemble de ces molécules, ce rapport a permis de mettre en évidence 4 perfluorés prioritaires : l'acide perfluorobutanoïque (PFBA), l'acide perfluorobutane sulfonique (PFBS), l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA) et le sulfonate de perfluorohexane (PFHxS). Cette sélection s'est faite selon plusieurs critères dont le statut réglementaire (REACH et réglementation sectorielle), le corpus de données disponibles pour chacun des composés, l'utilisation et l'évolution de l'utilisation

des composés, les valeurs de référence déjà disponibles etc... Ces 4 perfluorés ont donc fait l'objet de travaux distincts dans l'objectif de leur attribuer des VTR.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisés (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » l'instruction de cette saisine.

Les travaux d'expertise des rapporteurs ont été soumis régulièrement au CES (tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques). Le rapport produit par les rapporteurs tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

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

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

1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt

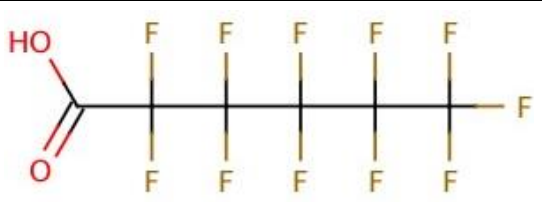
L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

2 Informations générales

2.1 Identification de la substance

Tableau 1 : Identification de la substance

Nom	Acide perfluorohexanoïque
Numéro CAS	307-24-4
Numéro EINECS	206-196-6
Synonymes	PFHxA
Formule	

2.2 Propriétés physico-chimiques

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques

Forme physique	Liquide incolore
Masse molaire	314
T° ébullition	157°C
Solubilité	15700 mg/L dans l'eau à température ambiante
Coefficient de partage $\log K_{o/w}$	3,48
Pression de vapeur	1,98 mmHg à 25°C

Source : toxnet

3 Synthèse des données toxicologiques

3.1 Toxicocinétique

3.1.1 Absorption

Dans une publication de Chengelis *et al.* (2009a), trois groupes de rats Sprague-Dawley (6 rats/sexe/groupe) ont été exposés par gavage à 50, 150 et 300 mg/kg/j de PFHxA, une fois par jour pendant 26 jours.

Au regard des concentrations sériques, l'administration orale de PFHxA résulte en une exposition systémique, proportionnelle à la dose administrée. L'absorption semble rapide, avec une T_{max} d'une heure. Les concentrations sériques sont plus élevées chez les mâles à tous les moments de l'étude, mais la différence s'atténue avec l'augmentation du dosage.

3.1.2 Distribution

Dans cette même publication (Chengelis *et al.*, 2009a), 3 singes/sexe et 12 rats/sexe ont été exposés à 10 mg/kg/j de PFHxA par voie intraveineuse.

Chez les deux espèces, la demi-vie sérique est plus importante chez les mâles que chez les femelles (5,3 h contre 2,4 h chez les singes, et 1 h contre 0,42 h chez les rats). Dans l'étude par voie orale, il n'est cependant pas observé de différence entre les genres, la demi-vie sérique étant autour de 2,5 h.

3.1.3 Métabolisme

Aucune donnée n'est disponible concernant le métabolisme du PFHxA.

3.1.4 Excrétion

Le PFHxA semble excrété rapidement, et majoritairement dans l'urine, puisque 24 h après une unique injection par intraveineuse, 84 et 76,9% de la dose administrée sont retrouvés dans les urines chez les mâles et les femelles respectivement.

Après administration par voie orale, les pourcentages retrouvés dans les urines restent élevés (entre 72 et 102%), et ne semblent pas être influencée par la dose administrée (Chengelis *et al.*, 2009a).

3.2 Toxicité aiguë

Le PFHxA a été administré à une dose unique de 175, 550, 1750 ou 5000 mg/kg/j à des rats femelles Crl :CD (Sprague-Dawley). Ces femelles ont ensuite été observées pendant 14 jours.

Toutes les rates exposées aux doses de 175 et 550 mg/kg/j ont survécu. Une rate est morte le jour du traitement à 1750 mg/kg/j et les trois rates testées sont mortes le jour du traitement à 5000 mg/kg/j. Des signes cliniques de toxicité systémique ont été observés chez la plupart des rats (démarche anormale, déshydratation, salivation, ataxie, léthargie...) (Loveless *et al.*, 2009).

3.3 Irritation

Aucune donnée n'est disponible concernant les effets irritants du PFHxA.

3.4 Sensibilisation

Aucune donnée n'est disponible concernant les effets sensibilisants du PFHxA.

3.5 Toxicité subchronique et chronique

3.5.1 Données chez l'Homme

L'étude de Fan *et al.* (2014) est une étude transversale nichée dans la cohorte C8. Elle a pour but d'étudier la relation entre 10 perfluoroalkyles et la maladie de Gilbert (anomalie génétique du métabolisme de la bilirubine entraînant une hyperbilirubinémie). Dans cette étude, le diagnostic de maladie de Gilbert repose uniquement sur l'analyse biologique (bilirubine totale, transaminases hépatiques et LDH) sans confirmation par un test génétique ce qui limite la portée des résultats. L'analyse par régression linéaire multiple avec ajustements sur l'âge, le sexe, le tabagisme, la prise d'alcool, les revenus, le niveau d'éducation, l'indice de masse corporelle et l'exercice physique a mis en évidence une association uniquement avec le PFHxA. Le degré de signification est important et persisterait vraisemblablement si les auteurs l'avaient corrigé en raison des multiples tests réalisés.

3.5.2 Données chez l'animal

Dans une étude conforme aux lignes directrices OCDE 408, 10 rats Crl : CD par sexe ont été exposés à 20, 100 et 500 mg/kg/j pendant 90 jours. De plus, 10 rats par sexe ont été ajoutés pour évaluer la réversibilité des effets après 30 jours supplémentaires, et 10 rats par sexes supplémentaire pour l'étude de la réversibilité après 90 jours supplémentaires. Enfin, 5 rats par sexes ont été ajoutés afin d'étudier la β -oxydation hépatique après 10 jours d'exposition. Il a été observé dans cette étude une diminution du poids corporel chez les mâles traités à 500 mg/kg/j (Loveless *et al.*, 2009).

Plusieurs modifications biochimiques sont observées dans cette étude à la plus forte dose, sans être reliées à une pathologie d'organe : une diminution de la créatinine chez les 2 sexes, toujours retrouvée après récupération, une diminution des protéines totales chez les 2 sexes, et une

augmentation des fluorures chez les 2 sexes. Une hypertrophie thyroïdienne chez les 2 sexes à la plus forte dose a été également observée.

Une deuxième étude par exposition subchronique est disponible pour le PFHxA. Dix rats Crl :Cd par sexe et par groupe ont été exposés à 10, 50 et 200 mg/kg/j pendant 90 jours. Dix animaux supplémentaires par sexe ont été ajoutés au groupe contrôle et à la plus forte dose pour l'étude de la réversibilité (Chengelis *et al.*, 2009b).

Une étude par exposition chronique a également été réalisée sur le PFHxA. Des rats Sprague-Dawley (60/sexe, sauf à la plus forte dose, 70/sexe) ont été exposés par gavage à 2,5, 15, et 100 mg/kg/j pour les mâles, et 5, 30 et 200 mg/kg/j pour les femelles. Le produit a été administré dans une solution aqueuse (eau déionisée) acide non tamponnée.

Il est observé dans cette étude une diminution chez les femelles du taux de survie corrigé par les morts accidentelles non liées au traitement (lésions dues au gavage/mécaniques, ou dues au reflux). Cette observation n'est pas faite chez les mâles (Klaunig *et al.*, 2015). Cependant, à la vue des résultats ces effets ne semblent pas très robustes puisque les p statistiques sont supérieurs à 0.05 (voir légende figure1 et graphe 1b).

3.5.2.1 Effets hépatiques

Dans l'étude par exposition subchronique décrite précédemment (Loveless *et al.*, 2009, cf. 3.5.2), il est observé une augmentation des poids absolu et relatif du foie chez les 2 sexes à 500 mg/kg/j (mâles : absolu + 45,7%, relatif + 62,9%, femelles : absolu + 35,6, relatif + 37%).

Associée à cette augmentation, il est observé une augmentation statistiquement significative et réversible des aspartate aminotransférases (ASAT), alanine aminotransférases (ALAT), à 100 et 500 mg/kg/j (ASAT : + 24 et 39%, ALAT : + 44 et 55%) et des phosphatases alcalines (ALP) à 500 mg/kg/j (+ 160%) chez les mâles. Ces modifications ne sont pas observées chez les femelles.

Il est également observé une hypertrophie hépatocellulaire minimale chez les 2 sexes (10/10 rats, 5/10 rates) à 500 mg/kg/j, avec récupération partielle.

Enfin, il est observé une augmentation de la β -oxydation à 100 et 500 mg/kg/j chez les mâles et 500 mg/kg/j chez les femelles, toujours observée après la période de récupération.

Dans l'étude de Chengelis *et al.* (2009b) par exposition suchronique décrite précédemment (cf. 3.5.2), il est observé une augmentation statistiquement significative du poids relatif (mais pas absolu) du foie (+ 22,4%) et une hypertrophie hépatocellulaire minimale (7 animaux sur 10) à 200 mg/kg/j chez les mâles. Il est également observé une augmentation statistiquement significative des ALAT et ALP à 200 mg/kg/j et une diminution statistiquement significative du cholestérol à 50 et 200 mg/kg/j chez les mâles. Enfin, il est observé une diminution statistiquement significative des globulines et des protéines totales à 200 mg/kg/j chez les 2 sexes. Excepté la diminution du cholestérol, tous les effets sur le foie dans cette étude sont réversibles après la

période de récupération de 28 jours. Enfin, il est également observé une augmentation de la β -oxydation à la plus forte dose chez les mâles.

Le seul effet hépatique notable dans l'étude par exposition chronique décrite précédemment (Klaunig *et al.*, 2015, cf. 3.5.2) est une augmentation de l'incidence et de la gravité des nécroses hépatocellulaires chez les femelles à la plus forte dose.

3.5.2.2 Hématologie

Dans l'étude par exposition subchronique décrite précédemment (Loveless *et al.*, 2009, cf. 3.5.2), des effets hématologiques sont également rapportés.

Il est notamment observé une diminution statistiquement significative des hématies, de l'hémoglobine, de l'hématocrite et une augmentation des réticulocytes à la plus forte dose chez les 2 sexes.

Il est également observé une augmentation statistiquement significative des plaquettes à la plus forte dose chez les 2 sexes.

Enfin, il est également observé une augmentation statistiquement significative des neutrophiles à toutes les doses et une diminution des éosinophiles et des basophiles à la plus forte dose chez les mâles.

Tous ces effets hématologiques ne sont plus observés après la période de récupération.

Dans l'autre étude par exposition subchronique disponible décrite précédemment (Chengelis *et al.*, 2009b cf. 3.5.2), il a été observé une diminution statistiquement significative des hématies chez les 2 sexes à la plus haute dose, de l'hémoglobine et de l'hématocrite chez les mâles, et une augmentation des réticulocytes chez les mâles à 200 mg/kg/j. Ces effets sont réversibles après la période de récupération.

Dans l'étude par exposition chronique décrite précédemment, malgré quelques modifications à 51 semaines chez les femelles (diminution des hématies, de l'hémoglobine, et augmentation des réticulocytes), aucune modification statistiquement significative des paramètres hématologiques n'est observée à la fin de la période de traitement (104 semaines) (Klaunig *et al.*, 2015, cf. 3.5.2).

3.5.2.3 Effets respiratoires

Dans l'étude par exposition subchronique décrite précédemment (Loveless *et al.*, 2009, cf. 3.5.2), il peut être observé une atrophie de l'épithélium olfactif à 100 et 500 mg/kg/j chez les 2 sexes, non retrouvée après récupération, et une métaplasie respiratoire à 500 mg/kg/j, toujours présente après récupération.

3.5.2.4 Effets rénaux

Dans l'étude de Chengelis *et al.* (2009b) par exposition subchronique décrite précédemment (cf. 3.5.2), il est observé une augmentation du poids relatif (mais pas absolu) des reins chez les mâles à 10, 50 et 200 mg/kg/j et chez les femelles à 50 mg/kg/j. Cette augmentation n'est pas normalisée après la période de récupération à 200 mg/kg/j chez les 2 sexes. Aucune observation histologique n'est associée à cette augmentation.

Dans l'étude par exposition chronique décrite précédemment (Klaunig *et al.*, 2015, cf. 3.5.2), il est observé une nécrose papillaire (17/70 animaux, de gravité minime à sévère) et une dégénération tubulaire (7/70 animaux) de gravité minime à modérée) chez les femelles à 200 mg/kg/j. Ces lésions sont associées à une augmentation statistiquement significative du volume urinaire et une diminution statistiquement significative de la gravité spécifique à 200 mg/kg/j chez les femelles à 26 semaines de traitement. Enfin, une modification du pH urinaire est notée chez les mâles à 100 mg/kg/j.

3.6 Effets sur la reproduction et le développement

3.6.1 Données chez l'Homme

Aucune donnée chez l'Homme concernant les effets sur la reproduction et le développement n'est disponible pour le PFHxA.

3.6.2 Données chez l'animal

Dans leur publication, Loveless *et al.* (2009) ont également étudié les effets développementaux et reprotoxiques du PFHxA en réalisant une étude 1 génération et développementale, conforme aux lignes directrice OCDE 414 et 415. Vingt rats par sexe ont été exposés à 20, 100 et 500 mg/kg/j, des jours de gestation (GD) 6 à 20 pour l'étude développementale et, 110 (mâles) à 126 jours (femelles) pour l'étude une génération.

Chez les parents, il est observé une diminution statistiquement significative du gain de poids corporel chez les mâles à 100 et 500 mg/kg/j (- 12 et 29%) et chez les femelles pendant la gestation à 500 mg/kg/j.

Chez la génération F1, il est observé une diminution statistiquement significative du gain de poids corporel à 500 mg/kg/j durant la lactation. Cependant après le sevrage, plus aucun effet sur le gain de poids n'est observé.

Aucun effet n'a pu être observé sur les indices de fertilité, d'accouplement, la durée de gestation, le nombre de sites d'implantation, les paramètres spermatiques, le cycle œstral, le sex ratio, les marqueurs de développement, etc...

Une étude combinée de reprotoxicité et de développement réalisée par les laboratoires Charles River est également disponible (Charles River, 2011). Le PFHxA a été administré par gavage à 20 souris Crl :CD1 par dose aux doses de 0, 100, 350 et 500 mg/kg/j, de GD6 à GD18. Les mères ont été sacrifiées 20 jours après la mise bas, et les F1 sélectionnés 41 jours après.

Chez les mères, il peut être observé une légère salivation excessive à 350 mg/kg/j chez 3 animaux, et une salivation légère à modérée à 500 mg/kg/j chez 6 animaux. Il est également observé une diminution statistiquement significative du gain de poids durant la lactation à 500 mg/kg/j (64,4% de la valeur du groupe contrôle). A 500 mg/kg/j, il est également observé une augmentation statistiquement significative du nombre de petits mort-nés. Les indices de viabilité étaient significativement diminués au jour 7 à 350 et 500 mg/kg/j (au jour 4 également pour ce groupe). Il peut également être observé des retards de développement, avec un retard significatif du jour auquel 50% des animaux avaient ouverts leurs yeux à 350 mg/kg/j, et le pourcentage de petits par portées avec les yeux ouverts significativement diminué 14 jours après la naissance à 350 et 500 mg/kg/j. Enfin, le poids terminal des femelles de la génération F1 était significativement diminué à 350 mg/kg/j, et le poids relatif du foie était significativement diminué chez les mâles à 500 mg/kg/j.

3.7 Génotoxicité

Loveless *et al.* (2009) ont également testé le potentiel génotoxique du PFHxA en réalisant un test d'Ames et un test d'aberration chromosomique *in vitro* conformément aux lignes directrices OCDE (471 et 473).

Aucun effet génotoxique n'a été mis en évidence dans ces tests, avec ou sans activation métabolique.

3.8 Cancérogénicité

Aucune augmentation de néoplasme n'est observée chez les mâles et les femelles, à toutes les doses, dans l'étude par exposition chronique décrite précédemment (Klaunig *et al.*, 2015, cf. 3.5.2).

3.9 Mécanisme d'action

Aucune donnée existante à ce jour concernant les mécanismes d'action du PFHxA.

3.10 Populations sensibles

Aucune donnée existante à ce jour concernant d'éventuelles populations sensibles au PFHxA.

4 Recueil des valeurs toxicologiques de référence

Aucune VTR existante à ce jour pour le PFHxA.

5 Proposition de VTR chronique par voie orale

5.1 Choix de l'effet critique

Les études disponibles sur le PFHxA ont mis en évidence différents effets :

- **Effets hépatiques** : Une augmentation des poids absolu et relatif du foie associée à une hypertrophie hépatocellulaire et une augmentation statistiquement significative des aspartate aminotransférase (ASAT) et alanine aminotransférase (ALAT) sont observées dans les deux études par exposition subchronique disponibles. Cependant, selon l'U.S. EPA (2002), les ALAT et les ASAT doivent être augmentées au minimum d'un facteur 2 ou 3 pour être considérées pertinentes, ce qui n'est pas le cas dans ces deux études. De plus, l'étude par exposition chronique ne montre pas d'augmentation de ces deux paramètres.
- **Effets rénaux** : L'étude par exposition chronique montre une nécrose papillaire et une dégénérescence tubulaire chez les femelles à 200 mg/kg/j (Klaunig *et al.*, 2015). Ces lésions sont associées à une augmentation statistiquement significative du volume urinaire et une diminution statistiquement significative de la gravité spécifique à la même dose chez les femelles à 26 semaines de traitement.

Au regard de la sévérité des lésions observées au niveau rénal, le CES a décidé de les retenir comme effet critique. Le CES souligne que ce choix protégera des potentiels effets observés au niveau hépatique.

5.2 Analyse des VTR existantes

Aucune VTR existante à ce jour pour le PFHxA.

5.3 Construction de VTR

5.3.1 Choix de l'étude clé

L'étude clé retenue est l'étude de Klaunig *et al.* (2015), la seule étude disponible pour une exposition chronique (2 ans). Il s'agit d'une étude d'assez bonne qualité, mais qui ne suit pas les lignes directrices de l'OCDE. Il est important de noter qu'un nombre important d'animaux sont également morts avant la fin de l'étude, indépendamment des effets toxiques de la substance.

5.3.2 Choix de la dose critique

Du fait de l'absence de relation dose-réponse (effet apparaissant à la plus forte dose), une BMD n'a pas pu être construite. En conséquence, le NOAEL est la dose directement inférieure au LOAEL identifié, à savoir 200 mg/kg/j. Le NOAEL est donc de 30 mg/kg/j.

5.3.3 Ajustements

Dans le but de réduire la valeur de l'incertitude due à la variabilité inter-espèce lors de la détermination d'une dose équivalente humaine, un ajustement allométrique a été réalisé, selon l'équation suivante :

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

$$\text{NOAEL}_{\text{HED}} = 30 \text{ mg/kg/j} \times \left(\frac{0,338 \text{ kg}}{70 \text{ kg}} \right)^{1/4} = 7,91 \text{ mg/kg/j}$$

5.3.4 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul de la VTR à partir du $\text{NOAEL}_{\text{HED}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015a) :

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

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5.

- Variabilité interindividuelle (UF_H) : 10

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

- Transposition subchronique à chronique (UF_S) : 1

L'étude clé retenue étant une étude chronique, un UF_S n'est pas nécessaire.

- Utilisation d'une BMDL, d'un LOAEL ou d'un NOAEL ($\text{UF}_{B/L}$) : 1

La construction de la VTR est basée ici sur un NOAEL, ce facteur ne s'applique pas.

- Insuffisance des données (UF_D) : 1

Les données toxicologiques disponibles sur le PFHxA sont suffisantes pour évaluer la toxicologie du composé. Un UF_D n'est donc pas nécessaire.

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

5.3.5 Proposition de VTR chronique par ingestion

$$VTR = \frac{7,91 \text{ mg/kg/j}}{25} = 0,316 \cong \mathbf{0,32 \text{ mg/kg/j}}$$

5.3.6 Niveau de confiance

Le niveau de confiance global a été attribué à cette VTR chronique par voie orale en se basant sur les critères suivants :

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données :

Fort : les données toxicologiques sont suffisantes pour évaluer ce composé. Les études disponibles sont bonne qualité.

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action :

Moyen : c'est un effet suffisamment robuste pour construire une VTR. Il n'est cependant retrouvé que chez les femelles, à la plus forte dose, sans relation dose réponse identifiable.

- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé :

Moyen : il s'agit d'une étude bien détaillée mais qui ne suit pas les lignes directrice et ne précise pas le respect des bonnes pratiques de laboratoire. Le nombre d'animaux par dose est important. Les écarts entre les doses de l'essai sont cependant assez élevés, et un nombre important d'animaux sont morts au cours de l'étude.

- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique :

Moyen : aucune relation dose réponse n'est identifiable. Une BMD n'a pas pu être construite, mais un NOAEL a pu être identifié.

Le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **moyen**.

6 Conclusions du CES

Une VTR chronique par voie orale est proposée pour le PFHxA (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Un niveau de confiance faible a été attribué à cette VTR.

Tableau 3 : VTR chronique par voie orale pour le PFHxA

Effet critique (étude clé)	Concentration critique	UF	VTR
Effets rnaux (Nécrose papillaire et dégénérescence tubulaire) Klaunig <i>et al.</i> , 2015	NOAEL = 30 mg/kg/j	25	VTR = 0,32 mg/kg/j
	<u>Ajustement allométrique :</u> NOAEL _{HED} = 7,91 mg/kg/j	UF _A : 2,5 UF _D : 1 UF _H : 10 UF _L : 1 UF _S : 1	Niveau de confiance Moyen

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé : le 23/02/2017.

Signature :

Maisons-Alfort, le _____,

Au nom des experts du CES

« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence »,

M Guerbet

Président du CES

7 Bibliographie

Agence française de normalisation (AFNOR), Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise. Norme française NF X 50-110, Mai 2003.

Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), (2015a) Valeurs toxicologiques de référence (VTR), Guide d'élaboration de VTR.

Anses, (2015b). RAPPORT de l'Anses sur les perfluorés. TOME 1 : Connaissances relatives à la réglementation, à l'identification, aux propriétés chimiques, à la production et aux usages des composés de la famille des perfluorés ; TOME 2 : Connaissances relatives aux données de contamination et aux expositions par des composés de la famille des perfluorés ; TOME 3 : Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des perfluorés.

Charles River Laboratories. Final Report. Oral (Gavage) Combined Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Toxicity Study of PFH Ammonium Salt (Ammonium salt of Perfluorinated Hexanoic Acid) in Mice. Charles River Laboratories Preclinical Services Protocol Number: 20005045. 26 July 2011.

Chengelis C. P., Kirkpatrick J. B., Myers N. R., Shinohara M., Stetson P. L., Sved D. W. (2009a) Comparison of the toxicokinetic behavior of perfluorohexanoic acid (PFHxA) and nonafluorobutane-1-sulfonic acid (PFBS) in cynomolgus monkeys and rats. *Reproductive Toxicology* 27 400–406

Chengelis C. P., Kirkpatrick J. B., Radovsky A., Shinohar M. (2009b) A 90-day repeated dose oral (gavage) toxicity study of perfluorohexanoic acid (PFHxA) in rats (with functional observational battery and motor activity determinations). *Reproductive Toxicology* 27 342–351.

Fan H., Ducatman A., Zhang J. (2014) Perfluorocarbons and Gilbert syndrome (phenotype) in the C8 Health Study Population. *Environmental Research* 135 pp 70–75.

Klaunig J. E., Shinohara M., Iwai H., Chengelis C. P., Kirkpatrick J. B., Wang Z. And Bruner R. H. (2015). Evaluation of the Chronic Toxicity and Carcinogenicity of Perfluorohexanoic Acid (PFHxA) in Sprague-Dawley Rats. *Toxicologic Pathology*, 43: 209-220.

Loveless S. E., Slezak B., Serex T., Lewis J., Mukerji P., O'Connor J. C., Donner E. M., Frame S. R., Korzeniowski S. H., Buck R. C. (2009) Toxicological evaluation of sodium perfluorohexanoate. *Toxicology* 264 32–44.

United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (2002) Hepatocellular hypertrophy. HED guidance document #G2002.01. Technical Report.

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)