

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



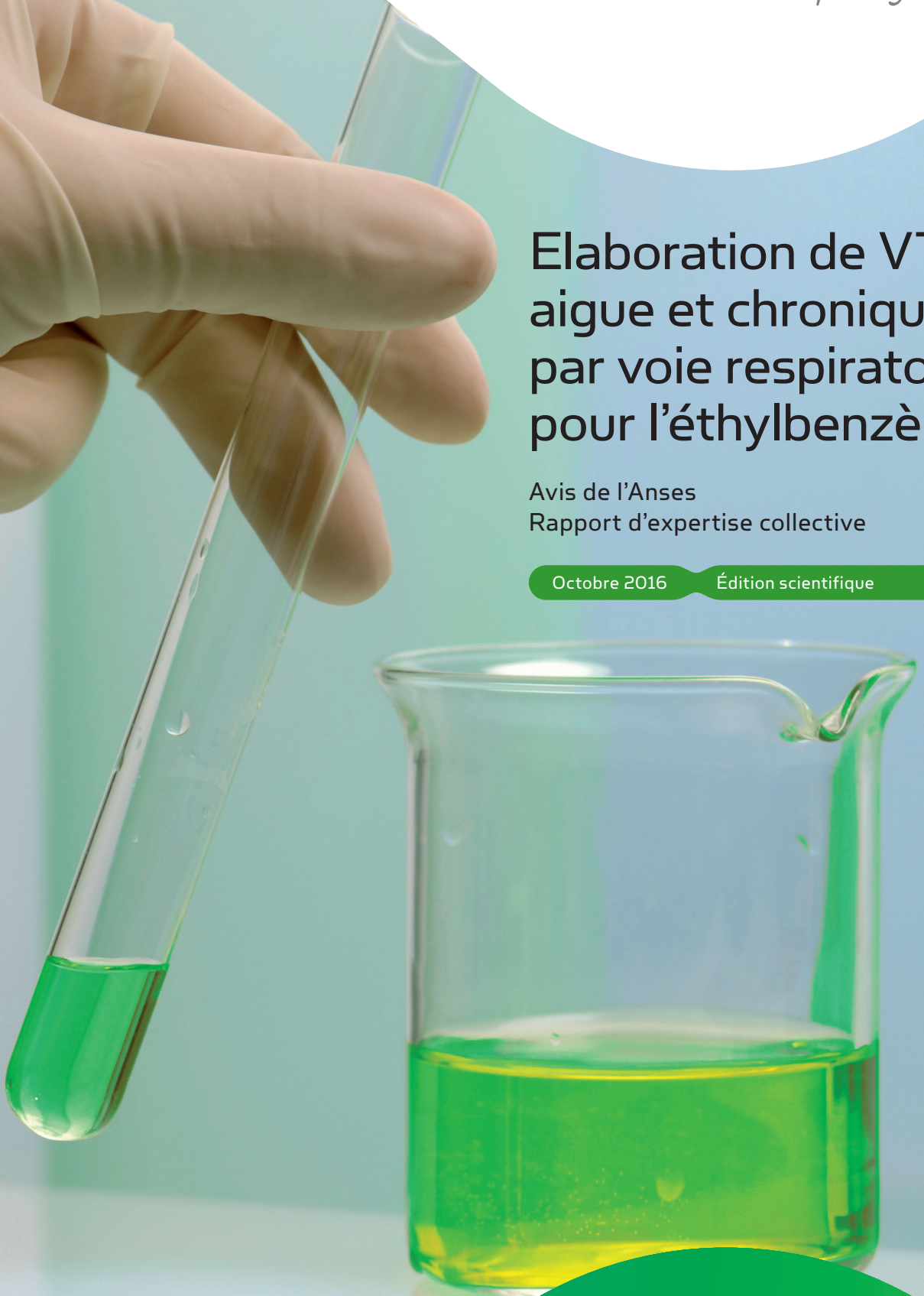
Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR aigue et chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

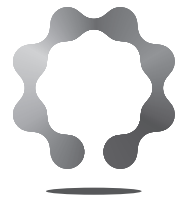
Octobre 2016

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Elaboration de VTR aigue et chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène

Avis de l'Anses

Rapport d'expertise collective

Octobre 2016

Édition scientifique

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 14 octobre 2016

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

relatif à l'élaboration de VTR par voie respiratoire pour l'éthylbenzène (n° CAS 100-41-1)

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 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 rendus publics.

L'Anses s'est autosaisie en 2016 pour élaborer des valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour l'éthylbenzène, en lien avec l'autosaisine relative à la construction de valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

L'Anses élabore des valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI) depuis 2004 pour des polluants d'intérêt de l'air intérieur dont l'éthylbenzène, fréquemment recherché dans les campagnes de mesure en France. Pour ce faire, un profil toxicologique a été réalisé et des VGAI ont été proposées. La démarche de construction des VGAI étant similaire à celle des VTR, l'Anses a souhaité valoriser le travail en proposant également des VTR par inhalation pour cette substance.

Une valeur toxicologique de référence, ou VTR, est un indice toxicologique qui permet de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine. Elle établit le lien entre une exposition à une substance toxique et l'occurrence d'un effet sanitaire indésirable. Les VTR sont spécifiques d'une durée d'exposition (aiguë, subchronique ou chronique) et d'une voie d'exposition (orale ou respiratoire). La construction des VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur les mécanismes d'action des substances. Actuellement, l'hypothèse par défaut est de considérer une relation monotone entre l'exposition, ou la dose, et l'effet, ou la réponse. En l'état actuel des connaissances et par défaut, on considère généralement que, pour les effets non cancérogènes, la toxicité ne s'exprime qu'au-delà d'un seuil de dose (Anses, 2016).

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 ;
- Ajustements et application de facteurs d'incertitude à la dose critique pour tenir compte des incertitudes.

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 octobre 2014 et mai 2016. Ils ont été adoptés par le CES « Substances » réuni le 12 mai 2016.

Ces travaux ont été soumis régulièrement au CES « Evaluation des risques liés aux milieux aériens » qui valide les travaux sur les VGAI.

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

Sources d'éthylbenzène

L'éthylbenzène est principalement utilisé comme intermédiaire de synthèse et solvant dans l'industrie chimique.

Les sources d'exposition à l'éthylbenzène dans l'environnement sont liées au processus de combustion de matières organiques, à l'application de peintures, vernis, laques et à sa présence naturelle dans le pétrole brut.

Profil toxicologique

Le profil toxicologique a été réalisé en se basant principalement sur les rapports de l'ATSDR¹ et de Santé Canada (ATSDR, 2010 ; Santé Canada, 2014). Une recherche bibliographique complémentaire sur la période [2012-2014]² a également été menée afin d'identifier des données récentes pertinentes qui n'auraient pas été prises en compte dans les 2 rapports cités précédemment.

¹ Agency for Toxic Substances and Disease Registry

² Les informations détaillées concernant cette recherche bibliographique complémentaire sont disponibles en annexe du rapport VTR accompagnant le présent avis.

- Toxicocinétique

L'éthylbenzène est facilement absorbé par la voie respiratoire. Des études chez l'animal indiquent que l'éthylbenzène est distribué dans tout l'organisme, suite à l'absorption par les voies respiratoires et cutanées. La métabolisation de l'éthylbenzène a lieu dans le foie par les cytochromes P450. L'éthylbenzène est d'abord hydroxylé pour former le phényl-1-éthanol, puis une série d'oxydations conduit à la formation successive de 2-hydroxy-acétophénone, 1-phényl-1,2-éthanediol, d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique. Il s'agit de la voie métabolique principale chez l'Homme suite à une exposition par inhalation. L'éthylbenzène est rapidement métabolisé avant d'être éliminé de l'organisme, principalement sous forme de métabolites urinaires. Le métabolisme de l'éthylbenzène varie selon l'espèce, le sexe et la voie d'exposition.

- Toxicité aiguë

Chez l'Homme, une exposition par inhalation dès 2 000 ppm³ d'éthylbenzène entraîne des effets respiratoires (irritations de la gorge et du nez, sensations de constriction thoracique) et neurologiques (dépression non spécifique du système nerveux central, vertiges).

Chez l'animal, une exposition aiguë par inhalation à l'éthylbenzène peut entraîner la mort ; des décès sont observés chez les rats pour des niveaux de concentration de 4000 ppm pendant 4h et l'exposition à 2400 ppm d'éthylbenzène 6h/j pendant 4 jours entraîne 100% de décès chez des rats ou des souris. Des effets dépressifs sur le système nerveux central (SNC), ont été observés suite à une exposition aiguë à des concentrations d'éthylbenzène de l'ordre de 2000 ppm. Une étude chez le rat indique une activation modérée du système nerveux moteur à des doses plus faibles (de l'ordre de 400 ppm). Des effets ototoxiques se manifestent dès 400 ppm par une altération du seuil auditif et des atteintes de la morphologie cochléaire. L'éthylbenzène est également responsable d'effets respiratoires allant de l'irritation à la congestion pulmonaire, d'effets hépatiques (augmentation du poids du foie, induction des enzymes hépatiques, changements dans l'ultrastructure des hépatocytes) et d'effets rénaux minimes (augmentation du poids des reins, induction des enzymes rénales microsomales).

- Irritation et sensibilisation

L'éthylbenzène est irritant pour les épithéliums oculaires et des voies respiratoires. De tels effets ont été observés chez les humains et chez les animaux. Aucune donnée n'a été rapportée en faveur d'une éventuelle sensibilisation respiratoire ou cutanée.

- Toxicité chronique

Quelques études épidémiologiques ont été recensées qui mettent en évidence chez l'Homme des effets respiratoires, hématologiques, neurotoxiques généraux ou une ototoxicité (perte auditive). Néanmoins, des co-expositions à d'autres substances ont été observées et limitent considérablement l'imputation de ces effets au seul éthylbenzène.

Chez l'animal, une exposition subchronique par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de l'ordre de 50 à 600 ppm, est responsable d'une augmentation du poids des reins (rats et souris) et de l'induction des enzymes rénales microsomales (rats). Ces effets sont similaires à ceux observés suite à une exposition aiguë. Des modifications histopathologiques des reins comprenant des changements induits par l' α_2 -microglobuline, ont également été observées chez des rats mâles exposés à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines. L'exposition chronique de rats mâles et femelles se traduit par des effets rénaux plus sévères incluant une augmentation de la gravité de la néphropathie progressive chronique (significative dès 75 ppm chez les rats femelles), une hyperplasie des tubules rénaux (significative à 750 ppm chez les rats mâles) ainsi qu'une

³ 1 ppm = 4,34 mg.m⁻³

augmentation de l'incidence des adénomes et des carcinomes des tubules rénaux (significative à 750 ppm chez les rats des 2 sexes).

Chez l'animal, les effets hépatiques observés suite à une exposition aiguë sont également rapportés pour une exposition subchronique : augmentation significative du poids relatif du foie (rats, souris, lapins, cochons d'Inde et singes, à des concentrations de l'ordre de 250 à 1000 ppm), induction des enzymes microsomales hépatiques (rats exposés à 50 ppm) et changements dans l'ultrastructure des hépatocytes (rats exposés à 50 ppm). Des changements de l'histologie hépatique ont également été observés pour des expositions subchronique et chronique par inhalation à l'éthylbenzène. L'exposition subchronique induit, chez les rats et la souris des deux sexes, des changements de l'histologie hépatique se manifestant notamment par une hypertrophie hépatocytaire (concentrations d'éthylbenzène de l'ordre de 250 ppm à 2200 ppm). L'exposition chronique induit des altérations hépatocytaires (dès 75 ppm) ainsi qu'une hypertrophie et une nécrose des hépatocytes (à 750 ppm). Ces effets sont observés uniquement chez la souris, et non chez le rat.

Aucun symptôme général de neurotoxicité n'a été observé chez l'animal suite à une exposition par inhalation à l'éthylbenzène pour des durées subchroniques ou chroniques. L'effet neurologique le plus sensible induit par une exposition à l'éthylbenzène est l'ototoxicité, caractérisée par une détérioration des seuils auditifs et une altération de la morphologie cochléaire déjà observées en situation d'exposition aiguë (dès 400 ppm chez le rat mâle) et également rapportées suite à une exposition subchronique dès 200 ppm chez le rat mâle.

- Génotoxicité

Les résultats des tests de mutagénicité *in vitro* indiquent que l'éthylbenzène n'a pas d'effet mutagène sur les cellules bactériennes, les levures (avec et sans activation métabolique) ou les cellules de mammifères non humaines, à l'exception d'un résultat positif lors d'un essai de mutation de cellules de lymphomes de souris L5178Y, mais à des concentrations induisant une cytotoxicité significative. Concernant les autres essais *in vitro* sur des cellules de mammifères, à l'exclusion des études qui ont testé des concentrations d'éthylbenzène cytotoxiques ou très proches, peu de résultats s'avèrent positifs. L'éthylbenzène ne présente pas d'activité mutagène ou clastogène lors des essais *in vivo* ; des résultats négatifs ont été obtenus lors d'essais d'aberrations chromosomiques dans la moelle osseuse du rat et lors de tests du micronoyau chez la souris.

Dans leur ensemble, les résultats des études de génotoxicité *in vivo* et *in vitro* suggèrent que l'éthylbenzène n'a pas d'effet génotoxique.

- Cancérogénicité

L'éthylbenzène a été classé dans le groupe D par l'US EPA⁴ en tant que « substance non classable quant à sa cancérogénicité pour l'Homme » (US EPA, 1991). Néanmoins, l'évaluation a été menée avant la publication des résultats d'une étude de deux ans de cancérogénicité par inhalation sur des rongeurs par le National Toxicology Program (NTP, 1999). Cette étude a mis en évidence chez les rats, une augmentation de l'incidence de tumeurs des tubules rénaux et chez la souris, une incidence accrue des tumeurs alvéolaires/bronchiolaires et des tumeurs hépatocellulaires. En 2000, le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a conclu que l'éthylbenzène était cancérogène possible pour l'Homme (classification dans le groupe 2B), sur la base de niveaux de preuves suffisants chez l'animal et insuffisants chez l'Homme. En 2002, l'éthylbenzène a été classé dans le groupe A3 « agent cancérogène confirmé pour les animaux avec pertinence inconnue vis-à-vis des humains » par l'ACGIH⁵ (équivalent au groupe 2B du CIRC). L'éthylbenzène n'a pas été classé cancérogène par l'Union Européenne d'après sa classification harmonisée au titre du règlement 1272/2008 dit règlement CLP.

⁴ United State Environmental protection agency

⁵ American Conference of Governmental Industrial Hygienists

- Mécanismes d'action

Ototoxicité : l'exposition par inhalation des animaux à l'éthylbenzène induit une perte d'audition causée par la perte irréversible des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti. En outre, les solvants organiques sont connus comme étant des substances neurotoxiques et en plus de la toxicité cochléaire, une altération de l'audition liée à une atteinte du système nerveux central est également soupçonnée. Les mécanismes moléculaires de l'ototoxicité induite par l'éthylbenzène n'ont pas été déterminés. Une étude récente suggère que l'ototoxicité induite par des faibles concentrations d'éthylbenzène pourrait être médiée par les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine. Sur la base d'études conduites avec du toluène (structuellement proche de l'éthylbenzène), il a été suggéré que l'augmentation des niveaux de calcium intracellulaires pourrait être responsable de la perte de cellules ciliées externes exposées à des solvants tels que l'éthylbenzène. Une autre hypothèse est que les cellules ciliées externes seraient affectées par la formation de radicaux libres appelés communément les espèces réactives de l'oxygène.

Neurotoxicité (système nerveux central) : les études *in vivo* chez l'animal au niveau cellulaire indiquent que des modifications des taux de dopamine et d'autres altérations biochimiques au niveau cérébral, ainsi que l'activité électrique dans le cerveau pourraient être impliquées dans la toxicité de l'éthylbenzène sur le système nerveux central. Des études *in vitro* du mécanisme de la toxicité ont mis l'accent sur l'effet de l'éthylbenzène sur les membranes cellulaires, en particulier celle des astrocytes. Les résultats de plusieurs études suggèrent que les modifications de la structure et de l'intégrité de la membrane cellulaire après répartition de l'éthylbenzène dans la bicouche lipidique pourraient constituer un mécanisme de neurotoxicité.

Effets rénaux (non cancérogènes) : les mécanismes à l'origine de la toxicité rénale, notamment l'aggravation de la néphropathie progressive chronique, observée chez le rat en lien avec une exposition chronique à l'éthylbenzène n'ont pas été élucidés.

Effets cancérogènes : les mécanismes à l'origine de la formation des tumeurs rénales observées chez les rats ainsi que des tumeurs hépatiques observées chez les souris sont inconnus. Les résultats des études de génotoxicité semblent écarter l'hypothèse d'un mécanisme génotoxique.

- Extrapolation de l'animal à l'Homme

Les études conduites *in vivo* ou *in vitro* concernant les processus cellulaires semblent indiquer que les mécanismes chez l'Homme et les animaux seraient similaires. Il existe certaines différences inter-espèces, en particulier s'agissant du métabolisme de l'éthylbenzène. Le rat semble être le modèle animal le plus approprié pour étudier les mécanismes de toxicité de l'éthylbenzène en ce qui concerne l'évaluation des effets sur la santé humaine car il s'agit d'une part, de l'espèce dont le métabolisme est le plus proche de l'Homme (la voie principale d'oxydation se fait comme chez l'Homme, par l'intermédiaire des CYP450 2E1 et les métabolites sont communs) et d'autre part, les rats semblent être l'espèce la plus sensible.

Le rat est donc le meilleur modèle animal disponible pour étudier les effets ototoxiques potentiels de l'éthylbenzène chez l'Homme d'un point de vue métabolique. De plus, il existe une même signature histopathologique (perte des cellules ciliées externes touchant en premier lieu la 3^{ème} rangée de cellules ciliées externes) chez l'Homme et l'animal des effets cochléotoxiques induits par une exposition aux solvants aromatiques dont l'éthylbenzène. Par ailleurs, les effets cochléotoxiques observés chez l'Homme suite à l'exposition à d'autres solvants aromatiques structuellement proches, tels que le toluène et le styrène (présence d'un noyau benzénique et d'une chaîne aliphatique courte), sont comparables à ceux de l'éthylbenzène. Les données disponibles permettent de conclure que la transposition à l'Homme des effets ototoxiques observés chez le rat pour une exposition à l'éthylbenzène est pertinente.

Pour ce qui concerne les effets rénaux, la transposabilité à l'Homme de la néphropathie progressive chronique observée chez le rat est discutée dans la communauté scientifique. Cette

maladie liée à l'âge se manifeste spontanément chez les rats de laboratoire. Elle est caractérisée par un spectre de modifications incluant une dilatation des tubules rénaux, une fibrose interstitielle et une infiltration de cellules mononucléaires inflammatoires, des foyers de régénération tubulaire et une hyperplasie épithéliale de transition de la papille rénale. Si ces signes cliniques sont proches de ceux observables chez l'Homme, ils ne sont pas spécifiques d'une pathologie rénale précise. Certains scientifiques considèrent qu'il s'agit d'un effet propre à l'espèce, les souris exposées ne présentant pas d'atteintes rénales. Les données disponibles sont insuffisantes pour conclure quant à la plausibilité de transposer à l'Homme l'aggravation de la néphropathie chronique progressive observée chez les rats femelles.

Elaboration de VTR par inhalation

Choix de l'effet critique

Le système auditif constitue l'organe cible le plus sensible à l'éthylbenzène pour des expositions subaiguë et subchronique. Une perte significative et irréversible des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti a été observée chez l'animal. Cet effet est mis en évidence dès 400 ppm suite à une exposition subaiguë (8h/j, 5j) et dès 200 ppm suite à une exposition subchronique (6h/j, 6j/sem, 13 sem). Cette atteinte cochléaire s'accompagne d'une augmentation significative du seuil auditif dans la zone des fréquences moyennes, également mise en évidence à des doses supérieures. Les atteintes du système auditif observées pour des expositions subaiguës et subchroniques sont semblables, de par leur nature et leur chronologie : perte des cellules ciliées externes touchant en premier lieu la 3^{ème} rangée de cellules ciliées externes (signature histopathologique), augmentation des seuils auditifs (baisse de l'audition) puis pertes des cellules ciliées internes. Par ailleurs, la destruction des cellules ciliées est irréversible ; la baisse de l'audition induite par la cochléotoxicité de l'éthylbenzène est donc persistante.

En l'absence de données humaines, la pertinence de transposer à l'Homme, suite à des expositions aux solvants aromatiques, les effets ototoxiques observés chez l'animal a été évaluée par les experts de l'Anses. Considérant l'adéquation du modèle rat pour l'étude des effets ototoxiques induits par les solvants aromatiques dont l'éthylbenzène, les données disponibles sur les mécanismes ototoxiques des solvants aromatiques, notamment l'existence d'une signature histopathologique des effets cochléotoxiques liés aux solvants aromatiques et le fait que les effets cochléotoxiques induits par le toluène et le styrène chez l'Homme soient comparables à ceux de l'éthylbenzène, les experts de l'Anses concluent que la transposition à l'Homme des effets ototoxiques observés chez le rat pour des expositions subaiguë et subchronique est pertinente. De plus, l'apparition de ces effets pour des expositions chroniques par inhalation, probablement à des niveaux de concentrations en éthylbenzène inférieurs à ceux testés dans les études pour des durées d'expositions aiguë et subchronique, est supposée en considérant l'application de la loi de Haber.

Concernant les effets cancérigènes possibles suite à une exposition chronique, de fortes interrogations subsistent actuellement sur le mécanisme d'action et la pertinence de la transposition chez l'Homme des tumeurs induites chez l'animal par l'éthylbenzène, substance classée cancérigène possible (groupe 2B) par le CIRC. En l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible d'écarter le potentiel cancérigène de la substance pour l'Homme. Néanmoins, les résultats des études de génotoxicité semblent écarter l'hypothèse d'un mécanisme génotoxique ce qui laisse présager l'existence d'un seuil de dose. L'élaboration d'une VTR chronique basée sur des effets ototoxiques mis en évidence pour une exposition subchronique à 200 ppm protégerait donc *a priori* de l'apparition de tumeurs rénales chez l'animal, observées pour une exposition chronique à une concentration de 750 ppm. Ainsi, le CES a retenu les effets ototoxiques, et plus précisément la perte de cellules ciliées externes dépendantes de la concentration en

éthylbenzène, comme effet critique quelle que soit la durée d'exposition (aiguë, subchronique, chronique).

Analyse des valeurs guides et valeurs toxicologiques de référence

Une analyse des valeurs guides et des VTR par inhalation proposées par les principaux organismes et institutions reconnus au niveau national ou international a été réalisée.

→ Exposition aiguë

Seul l'ATSDR a proposé une VTR pour des expositions aiguës de 5 ppm (ATSDR, 2010). Cette valeur a été établie à partir des données de l'étude de Cappaert *et al.* (2000). Dans cette étude, des rats ont été exposés dans différentes conditions d'exposition (concentrations de 0, 300, 400 et 550 ppm 8 heures par jour pendant 5 jours). L'effet critique considéré est un effet ototoxique, le déplacement du seuil auditif traduisant une baisse de l'audition.

Le CES a jugé l'étude de Cappaert *et al.* (2000) de bonne qualité et l'a donc retenue.

Plusieurs points sur la méthode de construction de cette valeur ont été discutés dans le cadre de cette expertise :

- Une analyse critique des modèles PBPK⁶ utilisés pour le calcul d'une BMC (*Benchmark concentration*) équivalente chez l'Homme (BMCL_{HEC}) à 154,26 ppm a été réalisée. Ces modèles présentent une bonne capacité prédictive (pour des expositions à des concentrations diverses, une bonne adéquation entre ce qui est mesuré et ce qui est calculé) : leur utilisation s'avère pertinente dans le cadre de l'élaboration d'une VTR pour des expositions aiguës à l'éthylbenzène. Les différentes étapes de la construction de la dose critique ont été expertisées et validées :
 - 1. Transformation des expositions atmosphériques en concentrations artérielles à partir du modèle PBPK chez le rat ;
 - 2. Modélisation de la relation entre l'augmentation de l'ototoxicité et la concentration artérielle journalière estimée / courbe dose-réponse ;
 - 3. Reconstruction de l'exposition atmosphérique de l'Homme à partir de la concentration artérielle.
- L'application d'un facteur d'incertitude de 3 pour la variabilité inter-espèce et 10 pour la variabilité interindividuelle est cohérente avec les méthodes mises en œuvre au sein de l'Anses.

Effet critique Etude source	Dose critique	UF	VTR
Ototoxicité Déplacement du seuil auditif <i>Cappaert et al., 2000 : étude 5 jours chez le rat</i>	BMCL _{1SD} = 81,10 µmol.L ⁻¹ <u>Ajustement dosimétrique</u> BMCL _{HEC} = 154,26 ppm	30 UF _{A-TD} 3 UF _H 10	MRL = 5 ppm (22 mg.m ⁻³)

MRL : minimum risk leve

Niveau de confiance :

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

⁶ Pharmacocinétique physiologique

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

Moyen car il n'existe aucune étude indiquant une ototoxicité aiguë chez l'Homme.

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

Fort. Malgré l'absence d'étude chez l'Homme mettant en évidence une ototoxicité, il existe des études chez l'Homme pour d'autres solvants organiques de structure très proche et entraînant des effets similaires, ce qui permet d'avoir confiance dans le choix de l'effet critique et du mode d'action. De plus, le modèle rat présente un métabolisme similaire à celui de l'Homme.

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

Fort. L'étude a été jugée de bonne qualité.

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

Fort. L'effet apparaît à 400 ppm et n'est pas observé à la dose inférieure (300 ppm).

Ainsi, en l'état des connaissances, le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **fort**.

→ Exposition chronique

Il existe une VTR subchronique proposée par l'ATSDR de 2 ppm établie sur le déplacement du seuil auditif. Des effets ototoxiques ont été observés chez les rats après une exposition subchronique à l'éthylbenzène par inhalation : déplacement du seuil auditif et perte de cellules ciliées externes (Gagnaire *et al.*, 2007). Il s'agit d'une étude 13 semaines réalisée chez des rats mâles aux doses suivantes : 0, 200, 400, 600 et 800 ppm. Une baisse de l'audition a été observée chez les animaux exposés dès 400 ppm. Des pertes de cellules ciliées externes ont été mises en évidence qui dépendent de la concentration en éthylbenzène, avec des pertes significatives dès 200 ppm et quasiment complètes à des doses de 600 et 800 ppm.

Aucun des modèles testés par l'ATSDR ne permettait d'ajuster correctement les données modélisées sur les données expérimentales concernant la perte de cellules ciliées externes. Ainsi, le CES n'a pas retenu cette VTR.

Pour une exposition chronique

Les VTR chroniques par inhalation disponibles, proposées par l'US EPA (1991), l'OEHHA (2000), le RIVM (2001) et l'ATSDR (2010) n'ont pas été retenues car elles ne sont pas établies sur l'effet critique considéré.

Ainsi, le CES propose de construire des VTR subchronique et chronique par inhalation.

Construction des VTR subchronique et chronique

Choix de l'étude clé

L'étude de Gagnaire *et al.* (2007), pour laquelle des effets ototoxiques par inhalation ont été observés chez les rats après une exposition subchronique (13 semaines), a été jugée de bonne qualité et a par ailleurs été choisie par l'ATSDR pour la construction de sa VTR subchronique. Cette étude est retenue pour la construction de la VTR subchronique.

En l'absence de données sur l'ototoxicité de l'éthylbenzène pour des expositions chroniques par inhalation, l'étude de Gagnaire *et al.* (2007) est retenue pour la construction de la VTR chronique. En effet, les effets ototoxiques observés suite à une exposition subchronique correspondent à des lésions irréversibles et peuvent être considérés comme des effets chroniques.

Choix de la dose critique

Les données expérimentales établies dans cette étude sur la perte de cellules ciliées externes ont pu être modélisées par l'Anses à l'aide des modèles mathématiques utilisés par le logiciel Proast (*Proast software version 38.9*) élaboré par le RIVM⁷ afin d'établir une BMC.

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Ce niveau ou ce pourcentage est appelé BMR (*Benchmark Response*). Suivant les recommandations de l'US EPA, le BMR correspond à une augmentation d'une fois l'écart-type par rapport à la moyenne du contrôle. Une augmentation d'1 écart type correspond ici à un niveau de réponse de 50%.

Lors de la détermination de la BMCL (limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMC), plusieurs modèles mathématiques ont été testés. La méthode d'ajustement du modèle aux données est le maximum de vraisemblance.

Dans le cas de l'éthylbenzène, le modèle s'ajustant le mieux aux données expérimentales relatives à la perte de cellules ciliées est le modèle de Hill pour l'estimation de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 90% d'une concentration correspondant à une augmentation de 50% de la réponse par rapport au groupe non exposé :

- $BMC_{0,5} = 136,9$ ppm
- $BMC_{0,5L_{90}} = 119,7$ ppm

Sur la base de ces résultats, il a été proposé de retenir comme concentration critique, la $BMC_{0,5L_{90}}$ construite pour l'effet critique « perte de cellules ciliées externes », **soit $BMC_{0,5L_{90}} = 119,7$ ppm.**

Ajustement dosimétrique

L'objectif est de réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèce afin de déterminer une concentration équivalente humaine. Pour la voie respiratoire, l'US EPA a développé différents ajustements dosimétriques en fonction des propriétés physicochimiques de la substance inhalée (particules ou gaz, fortement solubles ou peu solubles dans l'eau) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires) conduisant à différentes équations (US EPA, 1994).

D'après les recommandations de l'US EPA (1994), l'éthylbenzène doit être considéré comme un gaz de catégorie 3⁸ (toxicité systémique). Ainsi, l'ajustement dosimétrique appliqué par défaut pour un gaz de catégorie 3 est le suivant :

$$BMC_{0,5L_{90} \text{ HEC}} = BMC_{0,5L_{90}} \times (Hb/g)_{\text{rat}} / (Hb/g)_{\text{Homme}}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partition sang/air de l'éthylbenzène
HEC : concentration équivalente humaine

Selon les données disponibles dans les modèles PBPK, le coefficient de partition sang/air de l'éthylbenzène pour l'animal est supérieur à celui de l'Homme. Le ratio $(Hb/g)_{\text{rat}} / (Hb/g)_{\text{Homme}}$ étant supérieur à 1, l'US EPA propose de retenir la valeur par défaut de 1 qui est plus protectrice.

$$BMC_{0,5L_{90} \text{ HEC}} = 119,7 \text{ ppm}$$

Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 6 heures par jour, 6 jours par semaine pendant 13 semaines. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

⁷ RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu

⁸ L'US EPA a identifié trois catégories de gaz basées sur la solubilité et la réactivité de la substance considérée

$$\text{BMC}_{0,5\text{L}_{90\text{ HEC ADJ}}} = \text{BMC}_{0,5\text{L}_{90\text{ HEC}}} \times (6/24) \times (6/7) = 119,7 \times (6/24) \times (6/7) = 25,6 \text{ ppm}$$

Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul des VTR à partir de la $\text{BMC}_{0,5\text{L}_{90\text{ HEC ADJ}}}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015) :

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

L'ajustement dosimétrique réalisé a permis de calculer une concentration équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédente. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, 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 pour l'élaboration de la VTR chronique

La durée de l'étude clé sélectionnée, considérée en toxicologie comme « subchronique » (les animaux ont été exposés 6 jours par semaine pendant 13 semaines), correspond approximativement à 10 % de la vie des animaux, ce qui, chez l'Homme, correspondrait à environ 7 ans d'exposition selon les conventions.

Dans le cadre de la construction d'une VTR chronique, les données sont insuffisantes afin d'évaluer si des effets similaires pourraient apparaître suite à une exposition chronique à des concentrations inférieures à celles testées dans les études subchroniques. Ainsi, les experts de l'Anses ont décidé d'appliquer une valeur de 3 pour ce facteur uniquement dans le cadre de la construction de la VTR chronique.

Le facteur d'incertitude global est de 25 pour la construction d'une VTR subchronique et de 75 pour la VTR chronique.

Effet critique Etude source	Dose critique	UF	VTR
Effet ototoxique Perte de cellules ciliées externes dans l'organe de Corti <i>Gagnaire et al., 2007 : étude 13 semaines chez le rat</i>	$\text{BMC}_{0,5\text{L}_{90}} = 119,7 \text{ ppm}$ (modèle de Hill – logiciel PROAST 38.9) $\text{BMC}_{0,5\text{L}_{90\text{ HEC ADJ}}} = 25,6 \text{ ppm}$	25 UF_A 2,5 UF_H 10	VTR subchronique 1 ppm (4,3 mg.m ⁻³)
		75 UF_A 2,5 UF_H 10 UF_S 3	VTR chronique 0,3 ppm (1,5 mg.m ⁻³)

Niveau de confiance :

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

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données :
 - o **Fort** pour la VTR subchronique
 - o **Moyen** pour la construction de la VTR chronique en l'absence d'étude chronique.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : **fort**

- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : **fort**
- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique : **fort**

En l'état actuel des connaissances, le niveau de confiance global est donc **fort** pour les VTR subchronique et chronique.

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 « Substances » qui portent sur l'élaboration de valeurs toxicologiques de référence par inhalation pour l'éthylbenzène.

Pour rappel, en évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, l'Anses distingue trois types de durée d'exposition :

- Les expositions aiguës, de quelques heures à quelques jours ;
- Les expositions subchroniques, de quelques jours à quelques mois ;
- Les expositions chroniques, d'une ou de quelques années à la vie entière.

Le nature de la VTR (aigüe, subchronique, chronique) est déterminée en partie par la durée d'exposition des études toxicologiques mais également des besoins en évaluation de risques sanitaires.

Tableau 1 : VTR par voie respiratoire pour l'éthylbenzène (CAS n°100-41-4)

Effet critique <i>Etude clé</i>	Dose critique	UF	VTR
Effet ototoxique Perte de cellules ciliées externes dans l'organe de Corti <i>Cappaert et al. 2000 : étude 5 jours chez le rat</i>	BMCL _{HEC} = 154,26 ppm après ajustement dosimétrique d'une BMCL _{1SD} = 81,10 µmol/L	30 UF _A 3 UF _H 10	VTR aigüe 5 ppm (22 mg.m ⁻³) Niveau de confiance : fort
Effet ototoxique Perte de cellules ciliées externes dans l'organe de Corti <i>Gagnaire et al., 2007 : étude 13 semaines chez le rat</i>	BMC _{0,5L-90} = 119,7 ppm (modèle de Hill – logiciel PROAST 38.9) BMC _{0,5L-90 HEC ADJ} = 25,6 ppm	25 UF _A 2,5 UF _H 10	VTR subchronique 1 ppm (4,3 mg.m ⁻³) Niveau de confiance : fort
		75 UF _A 2,5 UF _H 10 UF _S 3	VTR chronique 0,3 ppm (1,5 mg.m ⁻³) Niveau de confiance : fort

Roger GENET

MOTS-CLES

Ethylbenzène, valeur toxicologique de référence, inhalation, aigue, subchronique, chronique, ototoxicité

Valeurs toxicologiques de référence (VTR)

**Elaboration de VTR aigue et chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène
(CAS n°100-41-4)**

Mission permanente « Valeurs toxicologiques de référence »

**Saisine « 2016-SA-0004 »
Saisine liée « 2013-SA-0136 »**

RAPPORT d'expertise collective

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

Mai 2016

Mots clés

Valeur toxicologique de référence, VTR, éthylbenzène, inhalation, aigue, chronique

Présentation des intervenants

PREAMBULE : 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.

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE

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 » – 14 janvier et 12 mai 2016

Président

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

Vice-président

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

Membres

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

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

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

Mme Anne CHEVALIER – 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

M. Karim MAGHNI – Professeur sous octroi agrégé à l'Université de Montréal – Toxicologie, immunologie, asthme, allergies, nanomatériaux – démission en mars 2016

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives, Centre de Marcoule. – Toxicologie « *in vitro* », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

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

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

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

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

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

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

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

RAPPORTEURS

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

M. Karim MAGHNI – Professeur sous octroi agrégé à l'Université de Montréal – Toxicologie, immunologie, asthme, allergies, nanomatériaux

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

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Clémence FOURNEAU – Chargée de projets scientifiques - Anses

Contribution scientifique

Mme Clémence FOURNEAU – Chargée de projets scientifiques – Anses

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

M. François POUZAUD – Chef de projets scientifiques – Anses

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX-PETRE – Anses

SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Sigles et abréviations	10
Liste des tableaux	12
Liste des figures	12
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine	14
1.1 Contexte	14
1.2 Objet de la saisine	14
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	14
1.4 Prévention des risques de conflit d'intérêt	15
2 Informations générales	16
2.1 Identification de la substance	16
2.2 Propriétés physico-chimiques	16
2.3 Sources	17
3 Synthèse des données toxicologiques	19
3.1 Toxicocinétique	19
3.1.1 Absorption	19
3.1.1.1 Etudes chez l'Homme	19
3.1.1.2 Etudes chez l'animal	19
3.1.2 Distribution	20
3.1.2.1 Etudes chez l'Homme	20
3.1.2.2 Etudes chez l'animal	20
3.1.3 Métabolisme.....	21
3.1.3.1 Etudes chez l'Homme	21
3.1.3.2 Etudes chez l'animal	22
3.1.4 Excrétion	23
3.1.4.1 Etudes chez l'Homme	24
3.1.4.2 Etudes chez l'animal	24
3.1.5 Synthèse des données de toxicocinétique	26
3.2 Toxicité aiguë	27
3.2.1 Toxicité aiguë chez l'Homme par voie respiratoire	27
3.2.1.1 Mortalité	27
3.2.1.2 Effets respiratoires	27

3.2.1.3	Effets neurologiques.....	27
3.2.2	Toxicité aiguë chez l'animal par voie respiratoire.....	27
3.2.2.1	Mortalité	27
3.2.2.2	Effets respiratoires	28
3.2.2.3	Effets hépatiques.....	29
3.2.2.4	Effets rénaux	29
3.2.2.5	Effets neurologiques.....	30
3.2.3	Toxicité aiguë par voie orale.....	31
3.2.4	Toxicité aiguë par voie cutanée	31
3.3	Irritation	32
3.3.1	Effets irritants chez l'Homme	32
3.3.2	Effets irritants chez l'animal	32
3.4	Sensibilisation.....	33
3.5	Toxicité chronique	33
3.5.1	Toxicité chez l'Homme par voie respiratoire.....	33
3.5.1.1	Effets respiratoires	33
3.5.1.2	Effets rénaux	34
3.5.1.3	Effets cardio-vasculaires	34
3.5.1.4	Effets digestifs.....	34
3.5.1.5	Effets musculo-squelettiques.....	34
3.5.1.6	Effets hématologiques.....	34
3.5.1.7	Effets hépatiques.....	35
3.5.1.8	Effets neurologiques.....	36
3.5.1.9	Effets cutanés et oculaires	38
3.5.1.10	Effets immunologiques	38
3.5.1.11	Effets sur le système endocrinien.....	38
3.5.1.12	Autres effets systémiques	38
3.5.2	Toxicité chez l'animal par voie respiratoire.....	38
3.5.2.1	Effets respiratoires	38
3.5.2.2	Effets rénaux	39
3.5.2.3	Effets cardio-vasculaires	40
3.5.2.4	Effets digestifs.....	40
3.5.2.5	Effets musculo-squelettiques.....	41
3.5.2.6	Effets hématologiques.....	41
3.5.2.7	Effets hépatiques.....	41
3.5.2.8	Effets neurologiques.....	43
3.5.2.9	Effets immunologiques	43
3.5.2.10	Effets sur le système endocrinien.....	44
3.5.2.11	Autres effets systémiques	44
3.5.3	Toxicité chronique par voie orale.....	45
3.5.4	Toxicité chronique par voie cutanée	47
3.6	Génotoxicité	47
3.7	Cancérogénicité	51

3.7.1 Toxicité chez l'Homme par voie respiratoire.....	51
3.7.2 Toxicité chez l'animal par voie respiratoire.....	52
3.7.3 Toxicité par voie orale.....	52
3.7.4 Toxicité par voie cutanée.....	53
3.8 Toxicité sur la reproduction et le développement	54
3.8.1 Toxicité chez l'Homme par voie respiratoire.....	54
3.8.2 Toxicité chez l'animal par voie respiratoire.....	54
3.8.3 Toxicité par voie orale.....	59
3.8.4 Toxicité par voie respiratoire.....	59
3.9 Mécanismes d'action	59
3.9.1 Ototoxicité.....	59
3.9.2 Effets sur le système nerveux central.....	60
3.9.3 Effets rénaux.....	61
3.9.4 Cancérogénicité.....	62
3.10 Extrapolations de l'animal à l'Homme	63
4 Recueil de valeurs guides et valeurs toxicologiques de référence par inhalation.....	65
4.1 VTR pour des expositions aiguës	65
4.2 VTR pour des expositions subchroniques (de 15 jours à 1 an).....	71
4.3 VTR pour des expositions chroniques (vie entière)	72
4.4 Synthèse des VG et VTR disponibles pour une exposition par inhalation	81
5 Proposition de VTR.....	84
5.1 Exposition aiguë.....	84
5.1.1 Choix de l'effet critique.....	84
5.2 Analyse des différentes VTR/VG par inhalation pour une exposition aiguë	86
5.3 Niveau de confiance.....	87
5.4 Proposition de VTR subchronique et chronique par inhalation	88
5.4.1 Choix de l'effet critique.....	88
5.5 Analyse des différentes VG/VTR existantes.....	92
5.6 Construction des VTR subchronique et chronique par inhalation	93
5.6.1 Choix de l'étude clé.....	93
5.6.2 Choix de la concentration critique.....	94
5.6.3 Ajustement allométrique	95
5.6.4 Ajustement temporel.....	96

5.6.5	Choix des facteurs d'incertitude.....	96
5.6.6	Proposition de VTR subchronique et chronique par voie respiratoire	97
5.6.7	Niveau de confiance	97
6	Conclusions du CES.....	98
7	Bibliographie.....	100
7.1	Publications scientifiques	100
7.2	Normes.....	110
	ANNEXES	111
	Annexe 1 : Recherche bibliographique complémentaire sur la période [2012-2014].....	112
	Annexe 2 : Anatomie fonctionnelle du système auditif humain – Eléments de définition..	117

Sigles et abréviations

1SD	1 écart-type
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
AEGL	Acute Exposure Guideline Levels
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BMC	Benchmark concentration
BMCL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMC
BMCL _{MCA}	Valeurs critiques de concentrations artérielles moyennes d'EB
BMC _{xL_y}	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à $\gamma\%$ de la BMC associée à un BMR de x
BMR	Benchmark response level (= niveau de réponse jugé adverse)
BTEX	benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes
CES	Comité d'experts spécialisé
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CL ₅₀	Concentration létale
COV	Composés organiques volatils
CVF	Capacité vitale forcée
CYP	Cytochromes
EOA	Emissions oto-acoustiques
ERU	Excès de risque unitaire
GD	Gestation day (= jour de gestation)
GT	groupe de travail
HEC	Human Equivalent Concentration (=Concentration équivalent humaine)
HQE	Haute Qualité Environnementale
INRS	Institut national de recherche et sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
IPCS	International Programme on Chemical Safety
LMS	Linearized multistage (= modèle multi-étapes linéarisé)
LOAEC	Lowest observed adverse effect concentration (= Concentration minimale entraînant un effet néfaste observé)
MCA	Concentration artérielle moyenne
MRAMKB	taux moyen de métabolisme de l'éthylbenzène exprimé par kg de masse corporelle
MRL	Minimal Risk Level
NCTB	Neurobehavioral Core Test Battery
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health

NOAEC	No observed adverse effect concentration (= Concentration maximale n'entraînant pas d'effet néfaste observé)
NTP	National Toxicology Program
OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment (Californie - États-Unis)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odd ratio
OQAI	Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur
PBPK	Pharmacocinétique physiologique
REL	Risk exposure level
RfC	Reference concentration
SNC	Système nerveux central
SBM	Syndrome des bâtiments malsains (en anglais SBS : Sick building syndrome)
TCA	Tolerable concentration in air
UF	Uncertainty factor (= facteur d'incertitude)
UF _A	Facteur d'incertitude inter-espèces
UF _{A-TD}	Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude inter-espèces
UF _{A-TK}	Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude inter-espèces
UF _D	Facteur d'incertitude lié au manque de données
UF _H	Facteur d'incertitude interindividuel
UF _{H-TD}	Composante toxicodynamique du facteur d'incertitude interindividuel
UF _{H-TK}	Composante toxicocinétique du facteur d'incertitude interindividuel
UF _L	Facteur d'incertitude lié à l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD
UF _S	Facteur d'incertitude lié à la transposition subchronique à chronique
US EPA	United States Environmental Protection Agency (États-Unis)
VEMS	Volume expiratoire forcé en une seconde
VG	Valeur guide
VGAI	Valeur guide de qualité d'air intérieur
VLEP	Valeurs limites d'exposition professionnelle
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identification de l'éthylbenzène (INRS, 2010a)	16
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques (CE, 2008; INRS, 2010a ; INERIS, 2015)	17
Tableau 3 : Résultats des études de mortalité conduites chez l'animal pour une exposition par inhalation à l'éthylbenzène	28
Tableau 4 : Résultats des tests <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> de génotoxicité	49
Tableau 5 : VTR aiguë par inhalation établie par l'ATSDR (2010).....	66
Tableau 6 : AEGL-1 éthylbenzène (effets transitoires, non-invalidants et réversibles après cessation de l'exposition)	68
Tableau 7 : AEGL-2 éthylbenzène (effets irréversibles, nocifs sévères ou adverses à long terme).....	69
Tableau 8 : AEGL-3 éthylbenzène (effets potentiellement mortels ou mortels).....	70
Tableau 9 : VTR subchronique par inhalation établie par l'ATSDR (2010).....	72
Tableau 10 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par le RIVM (2001)	73
Tableau 11 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par l'ATSDR (2010)	75
Tableau 12 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par l'US EPA (1991)	77
Tableau 13 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par l'OEHHA (2000).....	78
Tableau 14 : VTR chronique sans seuil par inhalation établie par l'OEHHA (2007)	79
Tableau 15 : Valeur guide de l'OMS pour une exposition chronique à l'éthylbenzène (1996)	80
Tableau 16 : VG/VTR disponibles pour une exposition aiguë par inhalation	82
Tableau 17 : VG/VTR disponibles pour des expositions subchronique/chronique par inhalation.....	83
Tableau 18 : Effets sanitaires observés pour les plus faibles doses suite à une exposition aiguë par inhalation à l'éthylbenzène.....	84
Tableau 19 : VTR aiguë par inhalation établie par l'ATSDR (2010).....	86
Tableau 20 : Effets sanitaires observés pour les plus faibles doses suite à une exposition subchronique/chronique par inhalation à l'éthylbenzène.....	88
Tableau 21 : Atteintes rénales observées chez les rats des 2 sexes dans l'étude du NTP (1999)	89
Tableau 22 : VTR aiguë par voie respiratoire pour l'éthylbenzène	98
Tableau 23 : VTR chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène	98

Liste des figures

Figure 1 : Schéma du métabolisme de l'éthylbenzène chez l'Homme (Engstrom <i>et al.</i> , 1984).....	22
Figure 2 : Extrait de la fiche Demeter (Documents pour l'évaluation médicale des produits toxiques vis-à-vis de la reproduction) Ethylbenzène (INRS, 2010b)	54
Figure 3 : Pourcentage de perte de cellules ciliées externes en fonction de la concentration d'exposition à l'éthylbenzène	94



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

Dans le cadre du programme de travail de la mission d'expertise sur les valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI) de l'Anses, un travail d'expertise en vue de la fixation de VGAI court et long terme a été demandé pour l'éthylbenzène.

La démarche de construction d'une VGAI étant similaire à celle d'une VTR par voie respiratoire, l'Anses a souhaité valoriser le travail réalisé en proposant des VTR aiguë et chronique par inhalation pour l'éthylbenzène.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au comité d'experts spécialisé (CES) « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » l'instruction de cette saisine en lien avec les travaux d'expertise VGAI adoptés par le CES « Évaluation des risques liés aux milieux aériens ».

Les travaux d'expertise des rapporteurs ont été soumis régulièrement au CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » 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 « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence ».

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

Afin d'assurer une cohérence entre les travaux issus de différents collectifs d'experts, le CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence », *via* la nomination d'experts rapporteurs, est en charge de l'élaboration de profils toxicologiques pour l'ensemble des substances chimiques traitées au sein de l'Anses en vue de dériver des valeurs de référence : VGAI, valeurs toxicologiques de référence (VTR) et valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP).

Le profil toxicologique de l'éthylbenzène aboutissant à des propositions de VTR, objet du présent rapport, a été soumis régulièrement au CES « Évaluation des risques liés aux milieux aériens » en lien avec les travaux d'expertise VGAI.

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.

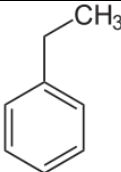
Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

2 Informations générales

2.1 Identification de la substance

L'éthylbenzène est un hydrocarbure aromatique appartenant à la famille des composés organiques volatils (COV). Cette substance fait partie d'un groupe de produits chimiques appelés «composés BTEX», qui comprend aussi le benzène, le toluène et le xylène.

Tableau 1 : Identification de l'éthylbenzène (INRS, 2010a)

Nom	Ethylbenzène
Numéro CAS	100-41-4
Numéro EINECS	202-849-4
Synonymes	Phényléthane, α -méthyltoluène, 1-Ethylbenzene, Ethylbenzol
Formule brute	C_8H_{10}
Formule développée	

2.2 Propriétés physico-chimiques

Dans des conditions normales de température et de pression, l'éthylbenzène se présente sous la forme d'un liquide incolore, inflammable avec une odeur aromatique caractéristique.

Les propriétés physico-chimiques de cette substance sont regroupées dans le Tableau 2 (ACGIH, 2011 ; ATSDR, 2010 ; INRS, 2010a).

Le seuil de détection olfactive dans l'air varie, selon les sources, de 1 à 2,3 ppm (INRS, 2010a).

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques (CE, 2008; INRS, 2010a ; INERIS, 2015)

Forme physique à T°C ambiante	Liquide incolore d'odeur aromatique.
Poids moléculaire	106,16 g.mol ⁻¹
Point d'ébullition	136,2 °C
Point de fusion	- 95 °C
Densité vapeur (air = 1)	3,66
Densité relative (eau = 1)	0,867 g.cm ⁻³ à 20°C
Pression de vapeur	0,93 kPa à 20°C 1,27 kPa à 25 °C 10 kPa à 67,1°C
Point d'éclair (en coupelle fermée)	Environ 18-21 °C
Solubilité dans l'eau	Faiblement soluble dans l'eau (0,15 g.L ⁻¹ à 20 °C ; 0,16 g.L ⁻¹ à 25°C)
Solubilité dans les solvants organiques	Faiblement soluble dans le chloroforme Soluble en toute proportion dans l'éther diéthylique et l'éthanol
LogKow	3,15 (à 25 °C)
Niveau de perception olfactive	Dans l'air : de 1 à 2,3 ppm
Facteurs de conversion (à 25°C, 1atm)	1 ppm = 4,41 mg.m ⁻³ à 20°C et 101,3kPa

2.3 Sources

L'éthylbenzène est produit par synthèse du benzène et de l'éthylène. Il peut se former naturellement lors de phénomènes de combustion ou de pyrolyse de matières organiques (par exemple, lors de feux de forêts, d'éruptions volcaniques, fumées de cigarettes, *etc.*) (INERIS, 2006).

L'éthylbenzène est principalement utilisé comme intermédiaire de synthèse et solvant dans l'industrie chimique.

Les sources d'exposition à l'éthylbenzène dans l'environnement sont liées au processus de combustion de matières organiques, à l'usage de peintures, vernis, laques et à sa présence naturelle dans le pétrole brut (INERIS, 2006).

L'éthylbenzène a également été identifié comme substance organique volatile émise par les produits d'ameublement et a été incluse à la liste pour l'étiquetage des produits d'ameublement (Anses, 2015). Cette substance a également été identifiée comme potentiellement émise par des produits de construction et de décoration et a été incluse à la liste de l'étiquetage des produits de construction et de décoration suite au décret n°2011-321 du 23 mars 2011 et de l'arrêté du 19 avril 2011 (modifié) (Afsset, 2009).

A l'intérieur des locaux, les processus de combustion sont des sources connues d'émission d'éthylbenzène. Les matériaux de construction et d'ameublement, ainsi que les produits de bricolage et d'entretien sont également des sources potentielles d'éthylbenzène. L'éthylbenzène a été mesurée dans 541 logements français par prélèvements passifs : la médiane des concentrations en éthylbenzène dans la chambre principale (ou pièce assimilée) est égale à $2,3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ avec un maximum à $85,3 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (OQAI, 2006). La concentration médiane de $18 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ dans les garages attenant et communiquant avec les logements est supérieure à celles mesurées dans l'ensemble des logements. Cinq articles publiés dans la littérature rapportent des concentrations en éthylbenzène mesurées dans l'air intérieur en France avec des concentrations médianes ou moyennes de l'ordre de grandeur du $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ en accord avec les résultats de campagnes de mesure réalisées par les Associations agréées de surveillance de la qualité de l'air (AASQA) qui peuvent également intervenir dans le champ de la qualité de l'air intérieur en France.

Dans l'air extérieur, la médiane des concentrations mesurées (prélèvement passif sur 7 jours) lors de la campagne nationale « Logements » de l'OQAI est de $1 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ et le maximum de $20,5 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (OQAI, 2006). A proximité du trafic routier, des concentrations en éthylbenzène de l'ordre du $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ sont mesurées par les AASQA.

3 Synthèse des données toxicologiques

Les données toxicologiques décrites dans ce chapitre sont citées dans les rapports de l'Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) et de Santé Canada (ATSDR, 2010 ; Santé Canada, 2014).

3.1 Toxicocinétique

3.1.1 Absorption

3.1.1.1 Etudes chez l'Homme

Les études par inhalation chez l'Homme montrent que l'éthylbenzène est rapidement absorbé par voie respiratoire (Bardodej et Bardodejova, 1970 ; Gromiec et Piotrowski, 1984 ; Knecht *et al.*, 2000 ; Tardif *et al.*, 1997).

Tardif *et al.* (1997) ont calculé suite à une exposition de volontaires en chambre d'inhalation, un ratio de concentration sang/air alvéolaire de 30 atteint 1 heure après le début de l'exposition. Lors de l'exposition de volontaires en chambres d'inhalation pendant 8 heures à des concentrations analytiques d'éthylbenzène de 23 à 85 ppm, 64% de la vapeur inspirée était retenue dans les voies respiratoires (traces relevées dans l'air expiré à la fin de l'exposition) (Bardodej et Bardodejova, 1970). Gromiec et Piotrowski (1984) ont exposé des volontaires par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène similaires à celles de l'étude de Bardodej et Bardodejova (1970) et ont mesuré un taux de rétention moyen de 49% au niveau respiratoire. Les différences de valeur d'une étude à l'autre peuvent être liées à des variations interindividuelles ou à des différences méthodologiques.

Des mesures de la concentration sanguine d'éthylbenzène en fin de poste chez des travailleurs étaient significativement corrélées avec les concentrations moyennes d'exposition au travail (la concentration maximale d'éthylbenzène dans l'atmosphère de travail était de 5 ppm) (Kawai *et al.*, 1992).

3.1.1.2 Etudes chez l'animal

Les études par inhalation chez l'animal présentent des résultats similaires à ceux observés chez l'Homme et montrent également une absorption rapide par voie respiratoire (Chin *et al.*, 1980a ; Freundt *et al.*, 1989 ; Fuciarelli, 2000 ; Romer *et al.*, 1986 ; Tardif *et al.*, 1997).

Chin *et al.* (1980a) ont exposé des rats Wistar par inhalation (corps entier). Les résultats montrent une absorption rapide par voie respiratoire d'éthylbenzène radio-marqué avec un taux de rétention estimé à 44% (valeur probablement surestimée car les contributions de la voie cutanée n'ont pas été prises en compte dans le calcul). Dans une étude de Cappaert *et al.* (2002), la concentration

sanguine d'éthylbenzène chez des rats et des cochons d'Inde exposés corps entier par inhalation à 550 ppm (concentration analytique) pendant 8 heures, atteignait 23 µg/mL pour les rats et 3 µg/mL pour les cochons d'Inde. Charest-Tardif *et al.* (2006) ont mesuré chez des souris les concentrations sanguines d'éthylbenzène 1 h après une exposition initiale par inhalation corps entier à différentes concentrations : 0,71 mg/L pour 75 ppm d'éthylbenzène ; 2,3 mg/L pour 200 ppm d'éthylbenzène ; 20 mg/L pour 500 ppm d'éthylbenzène. Ces observations indiquent que la disponibilité de l'éthylbenzène inhalé est différente chez le cochon d'Inde comparativement aux rats et souris.

Faber *et al.* (2006) ont observé que chez des rats adultes et leur descendance exposés par inhalation corps entier à l'éthylbenzène, les concentrations sanguines d'éthylbenzène étaient augmentées de manière non proportionnelle à la dose d'exposition (concentrations mesurées plus élevées que les concentrations théoriques). Les niveaux d'éthylbenzène mesurés dans le lait maternel collecté 22 jours après la mise bas, après 6 heures d'exposition à 25, 100 ou 500 ppm étaient de 0,11 ; 0,56 et 11 mg/L. Dans cette même étude, les concentrations sanguines moyennes d'éthylbenzène chez rats de la descendance (mâles/femelles) exposés à 25, 100, et 500 ppm étaient respectivement de 0,021/0,025 ; 0,26/0,24 et 11,4/12,7 mg/mL.

Aucune étude décrivant les facteurs affectant spécifiquement l'absorption de l'éthylbenzène suite à une exposition par inhalation n'était disponible.

3.1.2 Distribution

3.1.2.1 Etudes chez l'Homme

Il n'y a **pas de donnée chez l'Homme** sur la distribution de l'éthylbenzène suite à une exposition à l'éthylbenzène seul.

Chez des volontaires de sexe masculin exposés par inhalation (corps entier) à un mélange de xylènes industriels contenant 40,4% d'éthylbenzène, il a été estimé que 5% de la dose de solvant reçue était retenue dans le tissu adipeux. La rétention de l'éthylbenzène dans le tissu adipeux est estimée à environ 2 % de l'absorption totale (Engstrom et Bjurstrom, 1978).

3.1.2.2 Etudes chez l'animal

Plusieurs études conduites chez l'animal se sont intéressées à la distribution de l'éthylbenzène dans l'organisme après une exposition par inhalation (Elovaara *et al.*, 1982 ; Engstrom *et al.*, 1985 ; Fuciarelli, 2000).

Chez des rats et souris exposés à 750 ppm d'éthylbenzène, 6 heures par jour, 5 jours par semaines, pendant 2 semaines, les concentrations d'éthylbenzène dans le tissu adipeux mésentérique étaient 20 à 60 fois plus élevées que dans le sang ; alors que les concentrations dans le foie étaient similaires aux niveaux sanguins (Fuciarelli, 2000).

Engstrom *et al.* (1985) ont montré que les concentrations d'éthylbenzène dans le tissu adipeux périmésentérique étaient augmentées de manière non linéaire avec l'augmentation des concentrations d'exposition à l'éthylbenzène (Elovaara *et al.*, 1982).

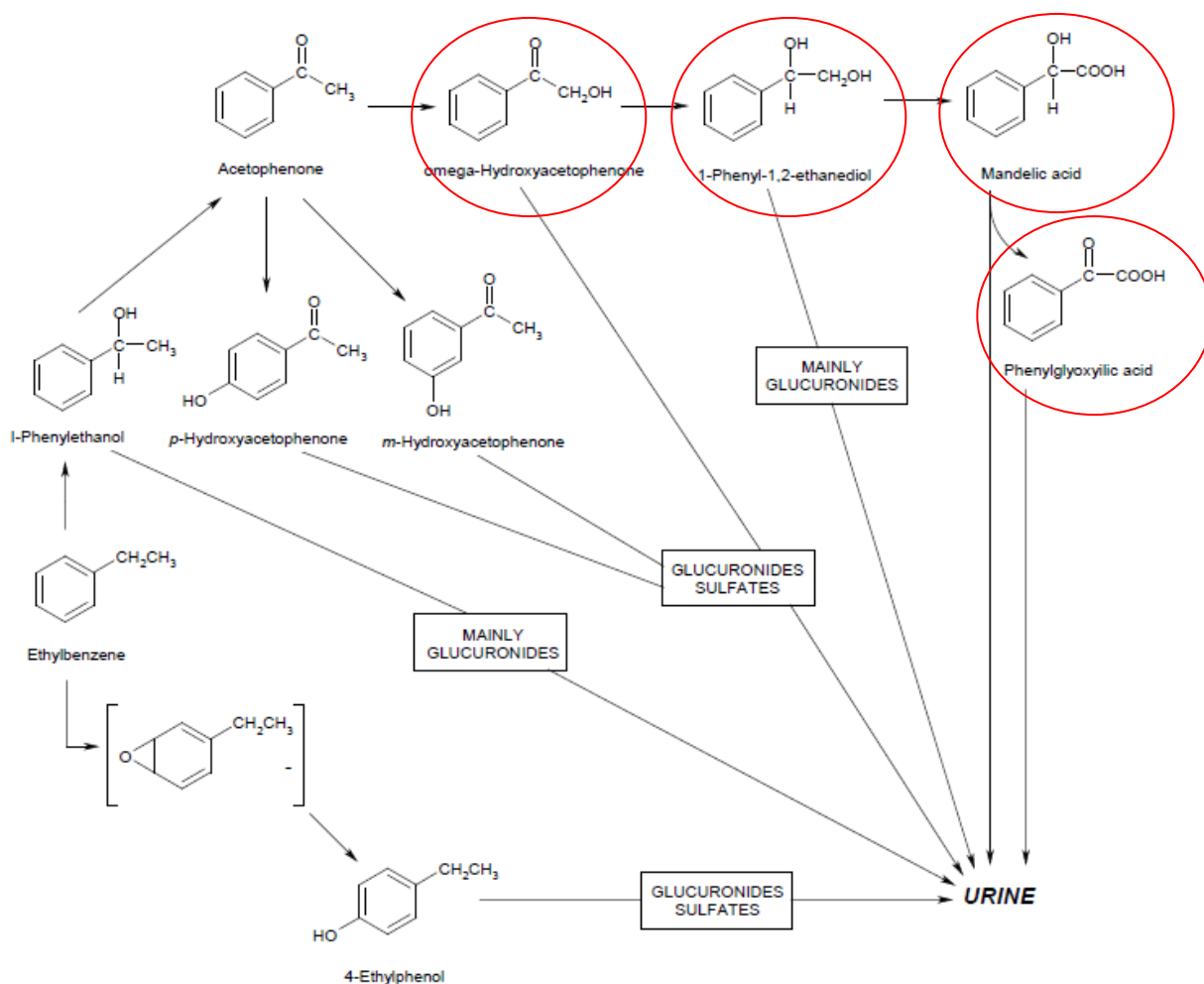
Une étude par inhalation à l'éthylbenzène radiomarqué a montré chez le rat que l'éthylbenzène est distribué efficacement dans tout l'organisme. Les niveaux les plus élevés de radioactivité dans les tissus, 42 heures après l'exposition à 230 ppm d'éthylbenzène pendant 6 heures, ont été observés dans la carcasse, le foie, le tractus gastro-intestinal et le tissu adipeux (Chin *et al.*, 1980a).

3.1.3 Métabolisme

Le métabolisme de l'éthylbenzène a été étudié chez l'Homme et chez plusieurs autres espèces de mammifères. La métabolisation a lieu dans le foie principalement par hydroxylation et *via* des réactions de conjugaison. Les métabolites urinaires principaux ont été identifiés (Kiese et Lenk, 1974 ; Sullivan *et al.*, 1976).

3.1.3.1 Etudes chez l'Homme

Sur la base des données observées chez l'Homme, chez l'animal et *in vitro*, Engstrom *et al.* (1984) ont proposé un descriptif du métabolisme de l'éthylbenzène chez l'Homme (cf. Figure 1).



Source: Engstrom et al. 1984

Figure 1 : Schéma du métabolisme de l'éthylbenzène chez l'Homme (Engstrom *et al.*, 1984)

L'éthylbenzène est hydroxylé dans le foie par les cytochromes P450 (implication des isoformes CYP2E1 and CYP2B6) pour former le 1-phényléthanol, lequel est oxydé en acétophénone qui subit une série d'oxydations conduisant à la formation de **2-hydroxyacétophénone**, de **1-phényl-1,2-éthanediol**, d'**acide mandélique** et d'**acide phénylglyoxylique** ; il s'agit de la voie majeure de métabolisation de l'éthylbenzène chez l'Homme suite à une exposition par inhalation. Certains de ces dérivés hydroxylés sont éliminés par les urines sous forme de composées glucurono- et sulfo-conjugués. Cette conjugaison est une étape mineure dans la dégradation de l'éthylbenzène (Bardodej et Bardodejova, 1970 ; Engstrom *et al.*, 1984 ; Knecht *et al.*, 2000 ; Jang *et al.*, 2001 ; Tardif *et al.*, 1997).

Suite à une exposition par inhalation chez l'Homme, les analyses ont montré que les métabolites majeurs urinaires de l'éthylbenzène sont l'acide mandélique (64 à 71%) et l'acide phénylglyoxylique (19 à 25%). Ces deux métabolites ne sont pas spécifiques de l'éthylbenzène, ils sont également les principaux métabolites urinaires du styrène. Des métabolites additionnels ont également été détectés : le 1-phényléthanol (4%), le *p*-hydroxyacétophénone (2,6%), le *m*-hydroxyacétophénone (1,6%) ainsi que des traces de 1-phényl-1,2-éthanediol, d'acétophénone, de 2-hydroxyacétophénone et de 4-éthylphénol (Bardodej et Bardodejova, 1970 ; Engstrom *et al.*, 1984).

A la suite d'une exposition par voie cutanée à l'éthylbenzène chez l'Homme, l'excrétion urinaire d'acide mandélique représentait seulement 4,6% de la dose absorbée ce qui pourrait indiquer des différences dans le devenir métabolique, entre la voie cutanée et la voie inhalée. Néanmoins, compte tenu du faible pourcentage de la dose absorbée, l'interprétation de ce résultat est limitée. Par ailleurs aucune des données animales disponibles n'a pu confirmer ces différences métaboliques entre les 2 voies d'exposition (Dutkiewicz et Tyras, 1967).

3.1.3.2 Etudes chez l'animal

Des différences qualitatives et quantitatives dans la biotransformation de l'éthylbenzène entre l'Homme et l'animal ont été rapportées dans les études. Les métabolites majeurs diffèrent d'une espèce à l'autre et des pourcentages différents des métabolites ont été observés chez des espèces différentes (Bakke et Scheline, 1970 ; Climie *et al.*, 1983 ; El Masry *et al.*, 1956 ; Engstrom *et al.*, 1984, 1985 ; Smith *et al.*, 1954a, 1954b ; Sollenberg *et al.*, 1985).

Les principaux métabolites retrouvés chez le rat suite à une exposition par inhalation ou par voie orale sont : les conjugués des acides benzoïques et de la glycine (ex : **acide hippurique** 38 %), le **1-phényléthanol** (25 %), l'**acide mandélique** (15 à 23 %) et l'**acide phénylglyoxylique** (10 %) (Climie *et al.*, 1983 ; Engstrom *et al.*, 1984, 1985 ; Fuciarelli, 2000). Des études *in vivo* et *in vitro* (microsomes hépatiques) chez le rat ont montré que le 4-éthylphénol était également produit à partir de l'éthylbenzène (Bakke and Scheline, 1970 ; Kaubisch *et al.*, 1972). L'étude de Kaubisch *et al.* (1972) a également montré que le 2-hydroxyéthylbenzène était produit *in vitro* à partir de l'éthylbenzène. De l'acétophénone a été détecté dans le sang de rats et de cochons d'Inde

exposés par inhalation à 500 ppm d'éthylbenzène, 8 heures par jour, pendant 3 jours (Cappaert *et al.*, 2002).

Le taux d'excrétion urinaire de l'acide mandélique mesuré chez des rats exposés à 250 ppm d'éthylbenzène, 6 heures par jour pendant 15 jours était identique entre le 1^{er} et le dernier jour d'exposition. En revanche, dans le groupe de rats exposé à 1000 ppm, l'excrétion d'acide mandélique était 2 à 5 fois plus élevée le dernier jour d'exposition comparativement au premier jour (Saillenfait *et al.*, 2006). Le niveau d'exposition à l'éthylbenzène affecte la cascade métabolique. Cela pourrait être dû à une induction enzymatique sélective dans la biotransformation de l'éthylbenzène ou à un retard d'excrétion de certains métabolites avec l'exposition à des doses croissantes d'éthylbenzène (Kaubisch *et al.*, 1972).

Sullivan *et al.* (1976) ont apporté un éclairage sur les voies métaboliques de l'éthylbenzène. En utilisant des rats ayant reçu une dose d'éthylbenzène par voie intrapéritonéale, les auteurs ont démontré que la conversion du 1-phényléthanol en acide mandélique impliquait d'abord une oxydation en acétophénone. L'acétophénone est considérée comme étant le précurseur de l'acide mandélique, l'acide benzoylformique et de l'acide benzoïque. Une étude similaire sur des lapins exposés par voie intrapéritonéale à 250 mg d'éthylbenzène par kg de poids corporel a montré qu'entre 1 et 10% de la dose était excrétée dans l'urine sous forme de 1-phényléthanol et moins de 1% était excrétée dans l'urine sous forme de 2-hydroxyacétophénone, p-hydroxyacétophénone et m-hydroxyacétophénone (Kiese et Lenk, 1974).

Chez le lapin, suite à une exposition par voie orale à l'éthylbenzène, la voie métabolique majeure mise en jeu est l'hydroxylation des carbones en alpha en 1-phényléthanol, lequel sera par la suite oxydé pour former différents intermédiaires et métabolites (El Masry *et al.*, 1956 ; Smith *et al.*, 1954a). Beaucoup de ces intermédiaires sont transformés en glucurono- et sulfo-conjugués puis excrétés. Le métabolite le plus important est **l'acide hippurique**, probablement formé par décarboxylation oxydative de l'acide phénylglyoxylique (El Masry *et al.*, 1958). Il a également été montré qu'une oxydation du groupe méthyle de l'éthylbenzène était mise en jeu, comme en témoigne la présence d'acide phénacéturique dans l'urine. Une faible augmentation de l'excrétion de thioéther suggère que la conjugaison au glutathion pourrait également jouer un rôle mineur.

Des différences entre les espèces et les organes dans le métabolisme de l'éthylbenzène ont été observées lors d'essais *in vitro* (Saghir *et al.*, 2009, 2010). Dans l'ensemble, l'activation métabolique de l'éthylbenzène par les fractions microsomales hépatiques était plus élevée chez la souris que chez les rats ou chez l'Homme, pour lesquels des niveaux semblables étaient observés. Les microsomes de poumon de rats et de souris étaient plus actifs dans la métabolisation de l'éthylbenzène que les microsomes hépatiques, tandis que les microsomes de poumon humain n'ont pas métabolisé l'éthylbenzène (taux de métabolites potentiellement inférieurs au seuil de détection).

3.1.4 Excrétion

L'excrétion de l'éthylbenzène a été étudiée chez l'Homme et chez plusieurs espèces animales. L'éthylbenzène est rapidement métabolisé avant d'être éliminé de l'organisme, principalement sous forme de métabolites urinaires.

3.1.4.1 Etudes chez l'Homme

L'élimination de l'éthylbenzène a été étudiée chez des volontaires exposés en chambre d'inhalation (Bardodej et Bardodejova, 1970 ; Dutkiewicz et Tyras, 1967 ; Engstrom et Bjurstrom, 1978 ; Gromiec et Piotrowski, 1984 ; Knecht *et al.*, 2000 ; Tardif *et al.*, 1997 ; Yamasaki, 1984).

L'élimination de l'éthylbenzène dans l'air expiré de volontaires exposés à 33 ppm suit une cinétique multiphasique avec une demi-vie inférieure à 1 heure (Tardif *et al.*, 1997). Cette vitesse d'élimination est similaire à la vitesse d'élimination de l'éthylbenzène sanguin après arrêt de l'exposition (Knecht *et al.*, 2000 ; Tardif *et al.*, 1997). L'élimination de l'éthylbenzène dans l'air expiré est beaucoup plus rapide que l'élimination par voie urinaire des métabolites ; la demi-vie plasmatique de l'acide mandélique est d'environ 3 à 5 heures et celle de l'acide phénylglyoxylique de 10 à 12 heures (Gromiec et Piotrowski, 1984 ; Knecht *et al.*, 2000 ; Tardif *et al.*, 1997). L'élimination de l'acide mandélique est biphasique avec une demi-vie de 3,1 heures pour la phase rapide et de 25 heures pour la phase lente (Gromiec et Piotrowski, 1984). Au cours d'une exposition de 8 heures, 23% de l'éthylbenzène absorbé est éliminé par voie urinaire. Quatorze heures après l'arrêt de l'exposition, 44% supplémentaires sont éliminés dans l'urine. Suite à une exposition à l'éthylbenzène par inhalation chez l'Homme, le taux d'excrétion de métabolites urinaires atteint son maximum 6 à 10 heures après le début de l'exposition (Gromiec et Piotrowski, 1984 ; Yamasaki, 1984).

L'élimination de l'éthylbenzène a également été étudiée lors d'expositions professionnelles par inhalation (Holz *et al.*, 1995 ; Jang *et al.*, 2001 ; Kawai *et al.*, 1991, 1992 ; Ogata et Taguchi, 1988). Chez des travailleurs d'une usine de production de styrène exposés à des doses d'éthylbenzène allant de 85 ppm à plus de 921 ppm, les concentrations en métabolites urinaires en début et en fin de poste étaient significativement plus élevées que chez le groupe contrôle de travailleurs exposés à des doses entre 33,4 et 66,8 ppm (Holz *et al.*, 1995). L'étude de Kawai *et al.* (1991) rapportent qu'une corrélation statistiquement significative était observée entre l'excrétion urinaire de l'acide mandélique et l'exposition à l'éthylbenzène chez des travailleurs d'une usine de production de revêtements métalliques, exposés à un mélange de solvant contenant une concentration moyenne d'éthylbenzène de 0,9 ppm (pondérée sur le temps de travail). Aucune corrélation n'a pu être observée entre l'exposition à l'éthylbenzène et l'excrétion urinaire d'acide phénylglyoxylique dans cette étude. Dans une autre étude réalisée pour des expositions chroniques à des niveaux inférieurs d'éthylbenzène (2,1 et 2,3 ppm pour les moyennes géométriques et arithmétiques, respectivement), aucune corrélation significative n'a été observée entre l'exposition à l'éthylbenzène et l'excrétion urinaire de l'acide phénylglyoxylique et de l'acide mandélique (Kawai *et al.*, 1992).

3.1.4.2 Etudes chez l'animal

Chez l'animal, l'élimination d'éthylbenzène suite à une exposition par inhalation est rapide et se déroule principalement via une excrétion urinaire (Chin *et al.*, 1980a, 1980b ; Engstrom *et al.*, 1984, 1985). A un degré moindre, l'excrétion se fait *via* les fèces et *via* l'air expiré (Chin *et al.*, 1980a).

Les rats exposés par inhalation à 230 ppm d'éthylbenzène radiomarqués (C^{14} -éthylbenzène) pendant 6 heures excrètent la quasi-totalité de la radioactivité dans les 24 heures suivant le début de l'exposition ; 91% de la radioactivité est éliminée, principalement sous forme de métabolites urinaires (Chin *et al.*, 1980a, 1980b). Une étude par inhalation chez des rats exposés à 300 ou 600 ppm rapporte que l'excrétion urinaire représente respectivement 83 et 59% de la dose d'éthylbenzène absorbée 48 heures après le début de l'exposition, dont 13 % sont éliminés au cours des 6 premières heures d'exposition (Engstrom *et al.*, 1984).

L'étude de Chin *et al.* (1980b) rapporte également des différences quantitatives inter-espèces en termes de pourcentage de métabolites excrétés dans l'urine. Cette étude s'est intéressée aux métabolites urinaires chez le chien et le rat exposés à l'éthylbenzène par inhalation. Bien que des similitudes concernant le type de métabolites retrouvé après l'exposition par inhalation soient rapportées, des différences quantitatives, même mineures, ont été relevées dans le taux de métabolites présents dans l'urine. Ces résultats ont été attribués à des différences de métabolisme entre le chien et le rat (Chin *et al.*, 1980b).

Chez le rat et la souris exposés par inhalation, l'élimination de l'éthylbenzène contenu dans le sang, le tissu adipeux, le foie et le tissu pulmonaire est biphasique (Fuciarelli, 2000). Dans le sang, la phase terminale d'élimination est 4 à 7 fois plus lente que la phase initiale d'élimination. La cinétique d'élimination sanguine de l'éthylbenzène inhalé dépend de la concentration d'exposition, avec une diminution de la clairance de l'éthylbenzène dans le sang lorsque la concentration d'exposition augmente.

Chez les souris femelles, les constantes de vitesse d'élimination de l'éthylbenzène mesurées après une exposition de 4 heures à des concentrations allant de 75 à 1000 ppm étaient $0,21 \text{ min}^{-1}$ (demi-vie = 3,3 min) à 75 ppm et $0,011 \text{ min}^{-1}$ (demi-vie = 63 min) à 1000 ppm ; des baisses similaires du taux d'élimination ont été observées chez les souris mâles (Charest-Tardif *et al.*, 2006).

Les valeurs de la demi-vie d'élimination augmentent approximativement d'un facteur 2 avec une augmentation d'un facteur 10 de la concentration d'exposition ; le ratio de l'aire sous la courbe (AUC) de la concentration sanguine d'éthylbenzène sur la concentration d'exposition est augmenté d'un facteur 10 à 20 (Fuciarelli, 2000). L'influence de la concentration d'exposition sur l'élimination est cohérente avec l'hypothèse d'une limitation des capacités du métabolisme de l'éthylbenzène. Le taux d'élimination mesuré chez la souris après 1 ou 7 jours d'exposition, 4 heures par jour à 75 ppm d'éthylbenzène reste constant. Cependant, pour une exposition à 750 ppm, le taux d'élimination diminue après 7 jours d'exposition ($0,016 \text{ min}^{-1}$, demi-vie = 43,3 min, souris femelle) comparativement au premier jour d'exposition ($0,061 \text{ min}^{-1}$, demi-vie = 11,4 min, souris femelle). Ces observations confortent l'hypothèse d'une induction de la clairance métabolique de l'éthylbenzène en lien avec l'exposition répétée à 750 ppm.

Chez des rats exposés à 75 ppm d'éthylbenzène pendant 6 heures, la vitesse de la phase initiale d'élimination est de $0,00902 \text{ min}^{-1}$ (demi-vie = 76,8 min) chez les mâles et de $0,0102 \text{ min}^{-1}$ (demi-vie = 68,1 min) chez les femelles. Chez les souris, la vitesse d'élimination était de $0,0596 \text{ min}^{-1}$ (demi-vie = 11,6 min) chez les mâles et $0,109 \text{ min}^{-1}$ (demi-vie = 6,36 min) chez les femelles

(Fuciarelli, 2000). La vitesse d'élimination de l'éthylbenzène du sang est plus rapide chez les souris comparativement aux rats (Charest-Tardif *et al.*, 2006).

3.1.5 Synthèse des données de toxicocinétique

L'éthylbenzène est facilement absorbé par la voie respiratoire. Le taux de rétention pulmonaire varie de 49 à 64 %, chez des volontaires exposés pendant 8 heures à des concentrations se situant entre 23 et 200 ppm.

Il n'y a pas de donnée chez l'Homme sur la distribution de l'éthylbenzène suite à une exposition à l'éthylbenzène seul. Des études chez l'animal indiquent que l'éthylbenzène est distribué dans tout l'organisme suite à l'absorption par les voies respiratoires et la peau.

La métabolisation de l'éthylbenzène a lieu dans le foie par les cytochromes P450. L'éthylbenzène est d'abord hydroxylé pour former le 1-phényléthanol, puis une série d'oxydations conduit à la formation successive de 2-hydroxyacétophénone, 1-phényl-1,2- éthanediol, d'acide mandélique et d'acide phénylglyoxylique ; il s'agit de la voie métabolique principale chez l'Homme suite à une exposition par inhalation. Les voies mineures de métabolisation incluent des glucurono et sulfo-conjugaisons avec des dérivés hydroxylés qui sont excrétés dans l'urine.

L'excrétion de l'éthylbenzène a été étudiée chez l'Homme et chez plusieurs espèces animales. L'éthylbenzène est rapidement métabolisé avant d'être éliminé de l'organisme, principalement sous forme de métabolites urinaires ; la demi-vie de l'acide mandélique est d'environ 3 à 5 heures et celle de l'acide phénylglyoxylique de 10 à 12 heures. Chez l'animal, l'élimination de l'éthylbenzène après une exposition par inhalation est rapide et se déroule principalement *via* une excrétion urinaire.

Le métabolisme de l'éthylbenzène varie selon l'espèce et le sexe : les métabolites majeurs diffèrent d'une espèce à l'autre et des pourcentages différents des métabolites ont été observés chez des espèces différentes. Il apparaît qualitativement similaire suite à une exposition par voie orale ou par inhalation.

Des différences métaboliques ont été relevées entre les voies d'exposition par inhalation et cutanée chez l'Homme. Suite à une exposition par inhalation, les principaux métabolites de l'éthylbenzène sont l'acide mandélique (64 à 71 %), l'acide phénylglyoxylique (19 à 25 %) et le 1-phényléthanol (5 %), tandis que l'excrétion d'acide mandélique d'une dose absorbée par voie cutanée n'était que de 4,6 %.

Le métabolisme de l'éthylbenzène n'a pas été étudié chez les enfants ou les animaux juvéniles. Cependant, on sait que certaines enzymes de la phase 2 (par exemple l'uridine 5'-diphosphoglucuronosyltransférase et sulfotransférases) participant à la conjugaison des métabolites de l'éthylbenzène sont régulées au niveau du développement (ATSDR, 2010 ; American Chemistry Council, 2007).

3.2 Toxicité aiguë

3.2.1 Toxicité aiguë chez l'Homme par voie respiratoire

3.2.1.1 Mortalité

Aucune donnée liée à l'exposition spécifique de l'Homme à l'éthylbenzène par inhalation n'a été recensée dans la littérature.

3.2.1.2 Effets respiratoires

Dans une étude de Yant *et al.* (1930), il est décrit que des volontaires de sexe masculin exposés pendant 6 minutes par inhalation à 2000 ppm d'éthylbenzène ont rapporté des **irritations de la gorge et du nez** ainsi que des **sensations de constriction thoracique** (aucune information méthodologique n'est disponible pour cette étude). Des irritations plus sévères de la gorge et du nez suivaient immédiatement une exposition à 5000 ppm d'éthylbenzène.

3.2.1.3 Effets neurologiques

Une **dépression non spécifique du système nerveux central** accompagnée notamment de symptômes de vertiges a été observée chez l'Homme pour des expositions aiguës par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène allant de 2000 à 5000 ppm pendant 6 minutes (Yant *et al.*, 1930).

Plusieurs études chez l'Homme ont rapporté des effets neurologiques liés à une exposition professionnelle aux mélanges d'hydrocarbures (peintures et essence) contenant de l'éthylbenzène : altération du comportement neuronal et de la capacité de mémoire à court-terme ainsi que des effets ototoxiques. Il est néanmoins difficile de déterminer quelle est la contribution relative de l'exposition à l'éthylbenzène dans le cas de travailleurs pour lesquels ces effets ont été observés.

3.2.2 Toxicité aiguë chez l'animal par voie respiratoire

3.2.2.1 Mortalité

Des études de mortalité liée à l'inhalation d'éthylbenzène ont été réalisées sur des modèles animaux pour des pas de temps allant de quelques heures à plusieurs jours (Andersson *et al.*, 1981 ; Cappaert *et al.*, 2002 ; Ethylbenzene Producers Association, 1986 ; Ivanov, 1962 ; Smyth *et al.*, 1962). Les taux de mortalité pour des expositions par inhalation sont regroupés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Résultats des études de mortalité conduites chez l'animal pour une exposition par inhalation à l'éthylbenzène

Référence	Espèce	Concentration d'exposition	Durée d'exposition	Effet
Ivanov (1962)	rats	13367 ppm	2h	50% décès /CL50 ¹
		4000 ppm	4h	50% décès
		16698 ppm	2h	100% décès
Smyth <i>et al.</i> (1962)	rats	4000 ppm	4h	50% décès
		8000 ppm	4h	100% décès
Cappaert <i>et al.</i> (2002)	cochons d'Inde	2500 ppm	8h	1/8 décès
			6h	aucun effet
Andersson <i>et al.</i> (1981)	rats	2000 ppm	6h/j pendant 3j	aucun décès (aucun signe clinique)
Ethylbenzene Producers Association (1986)	rats (Fischer 344)	1200 ppm	6h/j pendant 4j	larmolement
		2400 ppm		100% décès (1 à J1)
	souris (B6C3F1)	1200 ppm		4/5 décès (à J3)
		2400 ppm		100% décès à J2
	lapins	> 24000 ppm		aucun décès

3.2.2.2 Effets respiratoires

Les résultats des études par inhalation chez l'animal indiquent que l'éthylbenzène est responsable d'effets respiratoires allant de **l'irritation à la congestion pulmonaire**.

Dans leur étude, Yant *et al.* (1930) ont exposé des cochons d'Inde par inhalation (corps entier) à des concentrations nominales d'éthylbenzène de 1000, 2000, 5000 ou 10000 ppm jusqu'à 480 minutes (8h). Des irritations nasales (basées sur l'observation de frottements du nez) ont été observées chez les animaux exposés dès 1000 ppm pendant 3 et 8 minutes ; ainsi qu'à 2000 ppm pendant 480 minutes (8 heures), 5000 ppm pendant 30 minutes et 10000 ppm pendant 10 minutes. Les analyses histopathologiques ont révélé des congestions et œdèmes pulmonaires chez les animaux décédés après une exposition à 10 000 ppm d'éthylbenzène, avec des effets moins graves observés chez les animaux survivants.

L'exposition par inhalation (corps entier) de rats, souris et lapins à des concentrations nominales d'éthylbenzène de 0, 400, 1200 ou 2400 ppm 6h/jour pendant 4 jours (Ethylbenzene Producers Association, 1986) rapporte l'observation de congestions pulmonaires chez les animaux morts pendant l'exposition : à 2400 ppm pour les rats et dès 12000 ppm pour des souris. Aucun effet

¹ La CL₅₀ désigne les concentrations du produit chimique dans l'air qui causent la mort de 50 % des animaux de laboratoire au cours de la période d'observation.

respiratoire n'a été observé chez les rats exposés à 1200 ppm, les souris exposées à 400 ppm et les lapins exposés à 2400 ppm.

Une diminution de 50% de la fréquence respiratoire a été observée chez des souris exposées à 1432 ppm pendant 5 minutes (De Ceaurriz *et al.*, 1981) et chez des souris exposées à 4060 ppm pendant 30 minutes (Nielsen et Alarie, 1982). Aucun effet respiratoire n'a été observé chez des rats exposés à 2000 ppm pendant 3 jours (Toftgard et Nilsen, 1982).

3.2.2.3 Effets hépatiques

Une **augmentation du poids du foie**, une **induction des enzymes hépatiques** et des **changements dans l'ultrastructure des hépatocytes** (cohérents avec une induction du réticulum endoplasmique lisse) ont été observés chez les rats après une exposition aiguë à l'éthylbenzène par inhalation.

Une augmentation concentration-dépendante des poids absolu et relatif du foie a été rapportée chez des rats mâles exposés à des concentrations d'éthylbenzène supérieures ou égales à 400 ppm pendant 4 jours. Aucun changement histopathologique hépatique n'a en revanche été observé (Ethylbenzene Producers Association, 1986).

Une augmentation du poids relatif du foie, une augmentation de la concentration hépatique des cytochromes P450 et l'induction d'enzymes hépatiques microsomaux (NADPH-cytochrome réductase, 7-éthoxycoumarine O-dééthylase) ont été rapportés chez des rats exposés à 2000 ppm d'éthylbenzène pendant 3 jours (Toftgard et Nilsen, 1982).

3.2.2.4 Effets rénaux

Les effets rénaux d'une exposition aiguë par inhalation à l'éthylbenzène sont principalement des effets minimes : **augmentation du poids des reins** (chez les rats et les souris) et **induction des enzymes rénales microsomaux** (chez le rat).

L'exposition par inhalation (corps entier) de rats à des concentrations analytiques d'éthylbenzène de 2000 ppm 6h/jours pendant 3 jours a entraîné une augmentation du poids des reins, l'induction des enzymes microsomaux rénaux, et une augmentation des gouttelettes hyalines rénales chez les rats des deux sexes (Toftgard et Nilsen, 1982).

Le poids relatif des reins était augmenté de manière significative (11-20%) chez les rats mâles exposés corps entier à des concentrations analytiques d'éthylbenzène de 2000 ppm pendant 2 jours (Toftgard et Nilsen, 1982) et chez les rats mâles exposés corps entier à des concentrations nominales d'éthylbenzène 1200 ppm pendant 4 jours (Ethylbenzene Producers Association, 1986). Cette augmentation du poids des reins (chez les rats exposés à 1200 ppm d'éthylbenzène pendant 4 jours) n'était accompagnée d'aucun changement de l'histologie rénale. Une congestion rénale a été observée chez les rats et souris morts pendant l'exposition à 2400 ou 1200 ppm d'éthylbenzène, respectivement (Ethylbenzene Producers Association, 1986).

Une induction des enzymes microsomaux rénaux (7-éthoxycoumarine o-déséthylase, UDP-glucuronyl-transférase, NADPH-cytochrome c réductase) a été rapportée chez des rats suite à une exposition à 2000 ppm d'éthylbenzène pendant 3 jours (Toftgard et Nilsen, 1982).

3.2.2.5 Effets neurologiques

Des effets neurologiques ont été observés chez l'animal pour une exposition aiguë par inhalation à l'éthylbenzène. Dans l'ensemble, des **effets dépressifs sur le système nerveux central (SNC)** sont observés suite à une exposition aiguë à des concentrations élevées d'éthylbenzène, alors qu'une **activation du système nerveux moteur** apparaît pour les doses les plus faibles. L'effet neurologique le plus préoccupant pour ce type d'expositions semble être l'**ototoxicité**, qui se manifeste par une altération du seuil auditif et des atteintes de la morphologie cochléaire.

Effets sur le système nerveux central

Une activation modérée du comportement moteur chez les rats a été observée à la suite d'une exposition aiguë par inhalation (corps entier) pendant 4 heures à des concentrations analytiques d'éthylbenzène de 400 à 1500 ppm (400 ppm étant la plus faible dose d'essai), alors que des effets narcotiques étaient observés pour une exposition à des concentrations plus élevées de 2180 à 5000 ppm (Molnar *et al.*, 1986). L'interprétation de cette étude est néanmoins limitée par le manque de détails méthodologiques et l'absence d'une analyse statistique appropriée.

Une dépression du SNC (inconscience) et une ataxie ont été observées chez des cochons d'Inde exposés corps entier pendant 8h maximum à une concentration nominale d'éthylbenzène de 2000 ppm d'éthylbenzène (Yant *et al.*, 1930). Une salivation, une prostration et/ou une réduction de l'activité ont été observées chez des rats et des souris exposés corps entier respectivement à des concentrations nominales de 2400 et 1200 ppm pendant 4 jours (Ethylbenzene Producers Association, 1986). Des lapins exposés dans les mêmes conditions n'ont montré aucun effet indésirable comportemental.

L'exposition corps entier de souris pendant 20 minutes à des concentrations d'éthylbenzène supérieures ou égales à 2000 ppm entraîne des changements dans la posture ; une diminution de l'éveil ; une facilitation de la manipulation des animaux ; des troubles de la démarche, de la mobilité et du réflexe de redressement ; une diminution de la force de préhension des membres antérieurs ; et une altération de la coordination psychomotrice (Tegeris et Balster, 1994). Ces effets aigus étaient de courte durée et plus prononcés au cours de l'exposition qu'après l'exposition, la récupération commençant quelques minutes après le retrait de la chambre d'exposition. La réactivité sensorimotrice était également diminuée. L'exposition aiguë des rats et des souris à 245 et 342 ppm, respectivement (Frantik *et al.*, 1994), a abouti à une diminution de 30% de l'activité électrique dans le cerveau immédiatement après l'exposition.

Une diminution de la dopamine striatale et tubéro-infundibulaire chez les lapins a été observée pour une exposition aiguë à une concentration de 750 ppm (3 261 mg/m³) et au-delà (Mutti *et al.*, 1988 ; Romanelli *et al.*, 1986).

Effets ototoxiques

Des effets ototoxiques suite à une exposition aiguë par inhalation à l'éthylbenzène ont été observés chez des rats. Ces effets sont caractérisés par une détérioration du seuil auditif et des modifications de la morphologie cochléaire. Des rats mâles exposés corps entier à des

concentrations analytiques d'éthylbenzène de 0 à 800 ppm, 8 heures/jour, pendant 5 jours, présentaient une détérioration significative des seuils auditifs (environ 25 dB) 1 et 4 semaines après la fin de l'exposition dès 400 ppm (Cappaert *et al.*, 1999). L'augmentation des seuils était du même ordre de grandeur 1 et 4 semaine(s) après l'exposition ; le déplacement des seuils auditifs était manifeste pour toutes les fréquences testées (sur la gamme de fréquence de 1 à 24 kHz). Huit à 11 semaines après l'exposition, une perte significative (52-66%) de cellules ciliées externes dans l'organe de Corti dans la région auditive correspondant à la gamme de fréquences de 11 à 21 kHz a été observée. Aucune perte de cellules ciliées internes n'a été rapportée chez les animaux exposés.

Une autre étude de cette équipe de recherche a mis en évidence des changements des seuils auditifs (environ 15 à 30 dB) et des pertes de cellules ciliées externes (25-75%) 3 et 6 semaines après l'exposition chez des rats mâles exposés corps entier à des concentrations analytiques d'éthylbenzène de 400 ou 550 ppm, 8 heures/jour pendant 5 jours. Les seuils auditifs et l'intégrité des cellules ciliées externes n'étaient en revanche pas affectés chez les rats exposés à 300 ppm d'éthylbenzène (Cappaert *et al.*, 2000, 2001).

Après avoir exposés corps entier des rats et des cochons d'Inde à des concentrations analytiques d'éthylbenzène de 550 et 2500 ppm respectivement, 6 heures/jour pendant 5 jours, Cappaert *et al.* (2002) ont observé une différence significative liée à l'espèce dans la sensibilité aux effets ototoxiques. Contrairement aux rats, les cochons d'Inde ainsi exposés ne présentaient aucun déficit auditif ou pertes de cellules ciliées externes. Aucune perte de cellules ciliées internes n'était à déplorer chez les deux espèces (Cappaert *et al.*, 2002).

3.2.3 Toxicité aiguë par voie orale

Aucune étude n'a été recensée concernant les effets sanitaires liés à une exposition aiguë de l'Homme par voie orale à l'éthylbenzène.

Deux études animales se sont intéressées à la toxicité orale de l'éthylbenzène. Smyth *et al.* (1962) ont ainsi observé 50% de décès des rats après l'ingestion de 4769 mg/kg d'éthylbenzène. Gagnaire et Langlais (2005) ont rapporté que pour une administration par voie orale d'une quantité d'éthylbenzène de 900 mg/kg/j (dose unique testée), 1 fois par jour, 5 jours/semaine pendant 2 semaines, une perte quasiment complète des cellules ciliées externes dans la cochlée des rats était observée 10 jours après la dernière exposition. Cette étude n'avait pas de groupe témoin permettant d'établir clairement la part des effets observés attribuable au « bruit de fond ». Ces auteurs ont par ailleurs montré que les animaux exposés à l'éthylbenzène expérimentent un niveau de pertes de cellules ciliées parmi les plus élevés observés comparativement aux 20 autres solvants organiques testés dans cette étude (classement des solvants par niveau décroissant de perte de cellules ciliées : allylbenzène > éthylbenzène, styrène > n-propylbenzène > p-xylène > toluène, α -méthylstyrène, trans- β -méthylstyrène).

3.2.4 Toxicité aiguë par voie cutanée

Aucune étude n'a été recensée concernant les effets sanitaires liés à une exposition aiguë de l'Homme à l'éthylbenzène par voie cutanée. Matsumoto *et al.* (1992) ont rapporté le cas d'un

homme de 44 ans, décédé 9 jours après avoir été massivement exposé à de l'essence (qui contenait de l'éthylbenzène) par voie cutanée et par inhalation pour une durée d'au moins 10 heures.

Chez l'animal, l'exposition à l'éthylbenzène liquide est responsable de manifestations cutanées. Wolf *et al.* (1956) ont rapporté une légère irritation de la peau, des rougeurs, une desquamation et des cloques chez des lapins lorsque de l'éthylbenzène pur liquide était appliqué directement sur la peau des animaux. Smyth *et al.* (1962) ont rapporté le décès de 50% des lapins après l'exposition à 15433 mg/kg de poids corporel d'éthylbenzène liquide appliqué sur la peau rasée des animaux, puis recouverte d'un film plastique imperméable. Des irritations cutanées légères étaient observées chez les animaux 24 heures après le début de l'exposition.

3.3 Irritation

L'éthylbenzène est **irritant pour les membranes muqueuses (yeux et voies respiratoires)**; de tels effets ont été observés chez les humains et les animaux (Bardodej et Bardodejova, 1970 ; Cometto-Muñiz et Cain, 1995 ; Gerarde, 1963 ; Lewis, 1992 ; Moscato *et al.*, 1987 ; Smyth *et al.*, 1962 ; Wolf *et al.*, 1956 ; Yant *et al.*, 1930).

3.3.1 Effets irritants chez l'Homme

Des volontaires exposés en chambre d'inhalation ont rapporté **une irritation des yeux avec brûlures et larmoiements** liée à l'exposition continue à 1000 ppm d'éthylbenzène pendant 1 à 6 minutes. Pour des expositions à des concentrations d'éthylbenzène de 2000 ou 5000 ppm, les volontaires ont déclaré une irritation oculaire sévère (Yant *et al.*, 1930).

Cometto-Muñiz et Cain (1995) ont également rapporté une irritation oculaire chez l'Homme après une exposition à la vapeur d'éthylbenzène à une concentration de 10 000 ppm.

3.3.2 Effets irritants chez l'animal

L'application directe d'éthylbenzène liquide dans les yeux de lapins pour une durée indéterminée a causé une légère irritation des membranes conjonctivales (Wolf *et al.*, 1956) ainsi que de légères lésions cornéennes (Smyth *et al.*, 1962 ; Wolf *et al.*, 1956).

Les effets irritants de l'exposition à la vapeur d'éthylbenzène ont été rapportés chez l'animal. Tegeris et Balster (1994) ont rapporté un larmoiement et une fermeture palpébrale chez la souris après 20 minutes d'exposition à 2000 ppm d'éthylbenzène. Une irritation oculaire a été observée chez les cochons d'Inde exposés à 1000 ppm pendant 8 minutes, et chez les cochons d'Inde exposés à 2000, 5000 et 10000 ppm pendant 480, 30 et 10 minutes, respectivement (Yant *et al.*, 1930). Un larmoiement a été observé chez des rats exposés à 1200 ppm d'éthylbenzène, ainsi que chez des souris et des lapins exposés à 400 ppm d'éthylbenzène pendant 4 jours (Association éthylbenzène producteurs, 1986a).

3.4 Sensibilisation

Aucune donnée n'a été rapportée concernant une sensibilisation respiratoire et cutanée, chez l'Homme ou chez l'animal liée à l'éthylbenzène.

3.5 Toxicité chronique

La recherche bibliographique complémentaire menée sur la période [2012-2014] a permis d'identifier plusieurs études se rapportant aux effets chroniques induits par une exposition par inhalation à l'éthylbenzène seul. Lorsqu'elles étaient pertinentes, ces données sont donc décrites dans ce chapitre (cf. Annexe 1).

3.5.1 Toxicité chez l'Homme par voie respiratoire

3.5.1.1 Effets respiratoires

Aucune étude n'a été recensée concernant le développement d'effets respiratoires chez l'Homme en lien avec une exposition subchronique ou chronique à l'éthylbenzène seul.

En revanche, plusieurs études récentes se sont intéressées à l'exposition des enfants à des mélanges de polluants des environnements intérieurs parmi lesquels l'éthylbenzène. Ces études ont mis en évidence une association entre l'exposition à l'éthylbenzène et une diminution significative de la capacité vitale forcée (CVF) et du volume expiratoire forcé en une seconde (VEMS) chez des enfants exposés dans les environnements intérieurs à des concentrations d'éthylbenzène de l'ordre du $\mu\text{g.m}^{-3}$ (Martins *et al.*, 2012 ; Wallner *et al.*, 2012). D'après l'étude de Martins *et al.* (2012), l'augmentation de l'exposition à l'éthylbenzène est également associée à une acidification des condensats d'air expiré chez les enfants.

Martins *et al.* (2012) ont étudié la relation entre l'exposition totale à divers polluants des environnements intérieurs dont l'éthylbenzène et les atteintes des voies respiratoires dans un groupe de 51 enfants souffrant de sifflements respiratoires. A l'occasion de 4 visites (jan 2006, juin 2006, jan 2007, juin 2007), les auteurs ont procédé à l'étude du statut respiratoire des enfants (questionnaire, spirométrie, mesure des biomarqueurs d'inflammation) ainsi qu'à la mesure des concentrations d'exposition à l'éthylbenzène (et aux autres polluants investigués) dans les logements et les écoles fréquentées par ces enfants. L'exposition totale des enfants à l'éthylbenzène sur 1 semaine était de 2,8 (min : 0,6 - max : 33,5) $\mu\text{g.m}^{-3}.\text{sem}^{-1}$ (0,65 ppb. sem^{-1}) lors de la visite 1 ; 1,7 (0,7-5,2) $\mu\text{g.m}^{-3}.\text{sem}^{-1}$ (0,40 ppb. sem^{-1}) lors de la visite 2 ; 19,8 (7,6-60,6) $\mu\text{g.m}^{-3}.\text{sem}^{-1}$ (4,56 ppb. sem^{-1}) lors de la visite 3 ; 3,2 (0,8-16,0) $\mu\text{g.m}^{-3}.\text{sem}^{-1}$ (0,74 ppb. sem^{-1}) lors de la visite 4. L'augmentation de l'exposition totale à l'éthylbenzène était significativement associée à une diminution du VEMS (de même que l'augmentation de l'exposition au benzène, au toluène, aux PM_{10} et au NO_2), suggérant une détérioration de la fonction respiratoire. L'augmentation de l'exposition à l'éthylbenzène était associée de manière significative avec un pH acide des condensats de l'air exhalé (de même que l'augmentation de l'exposition aux PM_{10} , au NO_2 et au benzène) ainsi qu'à un dépassement de la valeur seuil de NO exhalé (FeNO), marqueurs d'une inflammation des voies respiratoires.

Wallner *et al.* (2012) ont procédé à l'analyse des concentrations de 34 polluants des environnements intérieurs parmi lesquels l'éthylbenzène dans 9 écoles afin d'étudier les associations potentielles entre les niveaux d'exposition aux polluants et une atteinte de la fonction respiratoire (mesurée par spirométrie) chez 433 enfants. Les prélèvements d'éthylbenzène étaient réalisés sur 24h à raison de 2 échantillons par salle de classe ; chaque école était ensuite caractérisée par 1 valeur de concentration calculée comme la moyenne des niveaux d'exposition mesurés. Les paramètres de la fonction respiratoire déterminés par spirométrie sont exprimés en pourcentage des valeurs de ces paramètres choisies comme références. L'exposition atmosphérique à l'éthylbenzène était associée de manière significative avec une diminution de la CVF et du VEMS des enfants (diminutions estimées à 4,5%) (de même que l'exposition atmosphérique aux xylènes). Les niveaux de concentrations d'éthylbenzène mesurés étaient (valeur médiane) de $1,5 \mu\text{g.m}^{-3}$ (0,35 ppb) avec un minimum à $0,5 \mu\text{g.m}^{-3}$ (0,12 ppb) et un maximum à $10,3 \mu\text{g.m}^{-3}$ (2,37 ppb).

Une autre étude s'est intéressée aux effets de l'exposition de la population générale à divers composés organiques volatils (COV) dans les environnements intérieurs, analysant leurs effets combinés sur l'asthme et la rhinite. Lorsque les différents COV étaient considérés indépendamment, l'éthylbenzène était significativement associé à une augmentation des rhinites (OR = 1,48 / IC_{95%} : 1,09 – 2,02) (de même que le trichloroéthylène, le m/p et le o-xylène) ; les concentrations d'éthylbenzène mesurées dans les logements investigués étaient de $2,2 \mu\text{g.m}^{-3}$ (médiane / min-max : < LD - $85,3 \mu\text{g.m}^{-3}$) (Billionnet *et al.*, 2011).

Dans ces études, la coexposition à d'autres substances pour lesquelles des associations significatives avec des marqueurs cliniques ou biologiques d'effets respiratoires ont également été observées limite considérablement l'imputation de ces effets à l'éthylbenzène seul.

3.5.1.2 Effets rénaux

Pas d'étude recensée.

3.5.1.3 Effets cardio-vasculaires

Pas d'étude recensée.

3.5.1.4 Effets digestifs

Pas d'étude recensée.

3.5.1.5 Effets musculo-squelettiques

Pas d'étude recensée.

3.5.1.6 Effets hématologiques

Trois études chez l'Homme se sont intéressées aux effets hématologiques en lien avec une exposition chronique à l'éthylbenzène ; il s'agit d'études de surveillance à long terme en milieu professionnel des travailleurs exposés à l'éthylbenzène (Angerer et Wulf, 1985 ; Bardodej et Cirek, 1988 ; Wang *et al.*, 2011).

L'étude d'Angerer et Wulf (1985) concerne le suivi de 35 travailleurs de sexe masculin exposés à un mélange de solvants dont l'éthylbenzène (au cours de la pulvérisation de vernis), comparativement à un groupe contrôle non exposé. Les travailleurs ont été employés en moyenne 8,2 ans à ce poste (de 2 à 24 ans) et exposés à une concentration moyenne d'éthylbenzène de 1,64 ppm. Les auteurs ont rapporté des changements dans la numération globulaire chez les travailleurs exposés : la quantité moyenne de lymphocytes était augmentée (41,5-68,8%) et les taux moyens d'hémoglobine étaient diminués (5,2-7,1%) par rapport aux témoins non exposés. Toutefois, en raison de l'exposition concomitante à d'autres produits chimiques (plomb, xylènes, toluène), une relation entre les effets hématologiques et l'exposition à l'éthylbenzène par inhalation ne peut être établie.

L'étude de Bardodej et Cirek (1988) concernant le suivi biologique (mesure des niveaux urinaires d'acide mandélique) de 200 travailleurs de sexe masculin employés dans une usine de fabrication d'éthylbenzène pendant 20 ans, n'a révélé **aucune modification des paramètres hématologiques chez les travailleurs exposés** comparativement aux travailleurs non exposés du groupe contrôle. Bien qu'aucune information sur les concentrations d'éthylbenzène n'ait été rapportée dans cette étude, Bardodej et Cirek (1988) ont estimé à partir des valeurs de la concentration urinaire d'acide mandélique, la concentration atmosphérique d'éthylbenzène à laquelle les travailleurs ont été exposés ; une concentration de $6,4 \text{ mg.m}^{-3}$ (1,5 ppm) a ainsi été calculée.

Wang *et al.* (2011) ont étudié les effets d'une exposition professionnelle à l'éthylbenzène sur les niveaux sanguins de neurotransmetteurs chez 246 travailleurs ; le groupe contrôle était composé de 122 membres du personnel de bureau. Les informations de base sur l'exposition des travailleurs à l'éthylbenzène ont été recueillies par le biais d'un questionnaire. Les taux de métabolites urinaires (acide mandélique et acide phénylglyoxylique) ont été mesurés en fin de poste ; les niveaux sanguins de neurotransmetteurs (acide gamma-aminobutyrique, dopamine et l'activité de l'acétylcholinestérase) ont été analysés ; les paramètres sanguins biochimiques (taux d'alanine aminotransférase, d'aspartate aminotransférase, de protéines totales, d'albumine, de phosphatase alcaline et de bilirubine totale) et hématologiques (taux de globules rouges, globules blancs, d'hémoglobine et de plaquettes) ont également été déterminés. Les niveaux de métabolites urinaires dans le groupe exposé étaient significativement plus élevés que ceux du groupe contrôle. Les auteurs n'ont rapporté aucune différence significative concernant les paramètres biologiques et hématologiques sanguins, ainsi que concernant les taux sanguins d'acide gamma-aminobutyrique chez les travailleurs exposés à l'éthylbenzène comparativement aux travailleurs du groupe contrôle (Wang *et al.*, 2011).

3.5.1.7 Effets hépatiques

Sur la base de la mesure de l'activité des enzymes hépatiques sériques, l'étude de Bardodej et Cirek (1988) n'a montré aucun effet sur la fonction hépatique parmi les hommes employés dans une usine de fabrication d'éthylbenzène sur une période de 20 ans.

Bien qu'aucune information sur les concentrations d'éthylbenzène ne soit rapportée dans cette étude, une concentration d'exposition atmosphérique à l'éthylbenzène de 6,4 mg.m⁻³ a été estimée par Bardodej et Cirek (1988) (comme décrit ci-dessus pour les effets hématologiques).

3.5.1.8 Effets neurologiques

Aucune étude n'a été recensée concernant des effets neurotoxiques généraux ou une ototoxicité en lien avec une exposition subchronique ou chronique de l'Homme à l'éthylbenzène seul.

Sliwiska-Kowalska *et al.* (2001) ont étudié l'exposition professionnelle de 303 travailleurs à des mélanges de solvants (xylène, acétate d'éthyle, white-spirit, toluène, acétate de butyle et éthylbenzène) seuls (207 travailleurs) ou en co-exposition avec le bruit (96 travailleurs). Les travailleurs étaient tous employés depuis 13 ans en moyenne dans des entreprises d'application de peintures et vernis. Dans les 2 groupes, le niveau moyen d'exposition à l'éthylbenzène était de 7,8 mg.m⁻³ (1,8 ppm) avec des valeurs allant de 0 à 65,6 mg.m⁻³.

Les résultats de cette étude ont montré que le risque relatif d'une perte auditive dans le groupe exposé uniquement aux solvants était augmenté de façon significative dans une gamme de fréquences allant de 2 à 8 kHz, comparativement au groupe de référence non exposé. Une augmentation significative des seuils auditifs (perte auditive) dans une gamme de fréquences allant de 1 à 8 kHz a également été observée chez les 2 groupes de travailleurs exposés aux solvants, en comparaison avec le groupe contrôle. L'implication de l'éthylbenzène seul dans les atteintes auditives observées ne peut être mise en évidence à partir de cette étude étant donné que les travailleurs étaient exposés à un mélange de solvants dont la plupart étaient présents à des niveaux de concentrations 1,5 à 3,5 fois plus élevés que l'éthylbenzène et dont certains sont des ototoxiques reconnus (xylène, toluène).

Dans leur étude sur les effets d'une exposition professionnelle à l'éthylbenzène sur les niveaux sanguins de neurotransmetteurs chez 246 travailleurs, Wang *et al.* (2011) ont rapporté que les niveaux sanguins de dopamine (0,21 ± 0,011 mg.L⁻¹) et d'acétylcholinestérase (0,321 ± 0,066 U.L⁻¹) mesurés chez les travailleurs exposés à l'éthylbenzène étaient significativement inférieurs à ceux du groupe contrôle (0,25 ± 0,015 mg.L⁻¹ et 0,583 ± 0,125 U.L⁻¹, respectivement) (P < 0,05).

Zhang *et al.* (2011) ont évalué l'influence d'une exposition professionnelle à l'éthylbenzène sur la fonction neuro-comportementale de 246 travailleurs ; le groupe contrôle était composé de 172 membres du personnel de bureau. Les informations de base sur l'exposition des travailleurs à l'éthylbenzène ont été recueillies par le biais d'un questionnaire. La fonction neuro-comportementale a été évaluée *via* le « Neurobehavioral Core Test Battery » (NCTB), recommandé par l'OMS ; détermination d'un état d'humeur). D'après les auteurs, les scores de l'émotion et de la vigueur étaient significativement plus faibles chez les travailleurs exposés professionnellement à l'éthylbenzène par rapport aux travailleurs du groupe témoin (p < 0,05), tandis que les scores de fatigue et le temps moyen de réaction étaient significativement plus élevés dans le groupe exposé. Les scores de mémoire à court terme, la dextérité manuelle, la rétention visuelle et la poursuite de cibles étaient significativement diminués dans le groupe exposé par rapport aux individus témoins. Les auteurs ont également rapporté que pour plusieurs

paramètres neurocomportementaux, des différences significatives ont été observées entre les travailleurs exposés à l'éthylbenzène pendant trois ans ou plus et les travailleurs exposés à l'éthylbenzène pendant une durée de 2 ans ou moins, suggérant que les travailleurs exposés pendant 3 ans à l'éthylbenzène pouvaient constituer une population susceptible de développer des troubles de la fonction neurocomportementale.

Lopes *et al.* (2013) ont analysé chez des travailleurs les changements auditifs liés à l'exposition combinée au bruit et aux solvants organiques, à travers une étude pilote dans le secteur de l'industrie du meuble. Quarante-quatre travailleurs ont été soumis à des tests audiométriques ; leurs niveaux d'exposition à plusieurs polluants chimiques (toluène, xylène et éthylbenzène) ainsi que les niveaux d'exposition au bruit ont été déterminés. D'après les auteurs, les travailleurs exposés simultanément au bruit et à des substances ototoxiques n'avaient pas un degré de perte auditive plus élevé comparativement aux travailleurs exposés seulement au bruit. Toutefois, la qualité de cette étude est discutable ; les niveaux d'exposition à l'éthylbenzène (et aux autres polluants) ne sont pas précisés, ni le port ou non de protections auditives par les salariés, rendant les résultats difficilement interprétables.

Zhang *et al.* (2013) ont évalué les effets d'une exposition professionnelle (chronique) à l'éthylbenzène sur les neurotransmetteurs sanguins, les fonctions neuro-comportementales et l'audition chez les travailleurs de la pétrochimie. Cette étude portait sur 246 et 307 travailleurs de sexe masculin de 2 usines pétrochimiques (groupes pétrochimiques 1 et 2 respectivement) exposés à la fois à l'éthylbenzène et au bruit. Parmi les groupes témoins, 290 travailleurs étaient exposés au bruit seul dans une centrale électrique et 327 travailleurs faisaient partie du personnel de bureau (groupe contrôle). Les travailleurs des différents groupes (exposés, témoins exposés et groupe contrôle) étaient employés en moyenne depuis 16 ans à leur poste. Les niveaux d'exposition à l'éthylbenzène et au bruit (audiomètre) ont été mesurés dans différents environnements de travail au sein des 2 usines pétrochimiques ; pour chaque travailleur, l'exposition cumulée au bruit était calculée sur la base d'une exposition de 20 ans, ajustée sur le nombre d'années de travail dans l'usine.

Afin d'évaluer les effets sanitaires potentiels, les niveaux sanguins de neurotransmetteurs monoamine, acides aminés et choline (régulateurs de la fonction neurocomportementale) ont été analysés, ainsi que la fonction neurocomportementale (*via* le NCTB) ; la perte potentielle d'audition était mesurée par audiométrie tonale associée à la réalisation d'un examen otoscopique du méat acoustique externe et de la membrane tympanique afin d'exclure toute maladie de l'oreille.

Les niveaux d'exposition à l'éthylbenzène étaient de $122,83 \pm 22,86 \text{ mg.m}^{-3}$ ($28 \pm 5 \text{ ppm}$) dans le groupe pétrochimique 1 ; $134,64 \pm 31,97 \text{ mg.m}^{-3}$ ($31 \pm 7 \text{ ppm}$) dans le groupe pétrochimique 2 et le niveau d'éthylbenzène n'a pas été détecté dans le groupe contrôle ($\text{LOD} = 1,3 \text{ mg.m}^{-3}$).

Les auteurs ont observé que la prévalence de la perte auditive était beaucoup plus élevée chez les travailleurs de l'industrie pétrochimique comparativement au groupe témoin exposé au bruit seul et au groupe contrôle (différence statistiquement significative). Par ailleurs, en comparaison avec le groupe des témoins exposés, les scores de la fonction neurocomportementale reflétant les facultés d'apprentissage et de mémoire ainsi que l'activité de l'acétylcholinestérase étaient significativement diminués chez les travailleurs de la pétrochimie. Les auteurs suggèrent qu'une

exposition professionnelle à l'éthylbenzène pourrait être associée à une perte d'audition importante ainsi qu'une altération de la fonction neurocomportementale.

3.5.1.9 Effets cutanés et oculaires

Pas d'étude recensée.

3.5.1.10 Effets immunologiques

Angerer et Wulf (1985) ont rapporté une augmentation du nombre de lymphocytes (41,5-68,8%) chez les travailleurs mâles (en charge de l'application de vernis par pulvérisation) exposés à un mélange de solvants comprenant de l'éthylbenzène (à une concentration moyenne de 1,64 ppm), en comparaison à un groupe témoin non exposé. La présence d'une exposition concomitante à d'autres produits chimiques (plomb, xylènes, toluène) dans cette étude ne permet pas d'établir une relation directe entre les effets hématologiques indésirables et l'inhalation d'éthylbenzène.

3.5.1.11 Effets sur le système endocrinien

Pas d'étude recensée.

3.5.1.12 Autres effets systémiques

Pas d'étude recensée.

3.5.2 Toxicité chez l'animal par voie respiratoire

3.5.2.1 Effets respiratoires

D'après l'étude du National Toxicology Program (NTP) (1992), chez des rats mâles exposés à 975 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours, le **poids relatif des poumons était augmenté** ; des **lésions pulmonaires** (infiltrat de cellules inflammatoires) ont été observées pour une exposition \geq 246 ppm pendant 90 jours. Chez les rats femelles, une **augmentation des poids absolu et relatif du poumon** a été observée pour une exposition à 246 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours, mais pas pour des concentrations plus élevées. Le NTP a considéré que ces effets étaient plutôt le signe d'une exposition à un agent infectieux qu'une réponse au composé testé et par conséquent, les effets pulmonaires observés n'ont pas été attribués à l'exposition à l'éthylbenzène.

Aucun changement dans l'histopathologie des tissus respiratoires n'a été observé chez des rats exposés à 2200 ppm d'éthylbenzène pendant 6 mois, chez des cochons d'Inde ou des lapins exposés à 1250 ppm pendant 6 mois ainsi que chez des singes exposés à 600 ppm pendant 6 mois (Wolf *et al.*, 1956). Cependant, l'interprétation des résultats de cette étude est limitée par un manque global de détails méthodologiques (absence de données d'exposition) et par le faible effectif des groupes d'exposition (1 à 2 lapins ou singes par groupe).

Les résultats de l'étude du NTP (1999) n'ont mis en évidence aucune modification histologique attribuable à l'éthylbenzène dans les tissus respiratoires des rats ou des souris exposés à plus de 750 ppm d'éthylbenzène pendant 2 ans. Bien que chez les rats mâles exposés à 750 ppm d'éthylbenzène, l'incidence des œdèmes, de la congestion et l'hémorragie pulmonaires soit

augmentée par rapport aux rats témoins, ces observations ont été considérées par le NTP comme des modifications respiratoires typiques des animaux agoniques et donc non directement liés à la toxicité de l'éthylbenzène.

3.5.2.2 Effets rénaux

Chez l'animal, une **exposition intermédiaire** par inhalation à l'éthylbenzène est responsable d'une **augmentation du poids des reins** (chez les rats et les souris) et de l'**induction des enzymes rénales microsomales** (chez le rat). L'**exposition chronique** de rats mâles et femelles se traduit par des **effets rénaux plus graves** incluant une **néphropathie**, une **hyperplasie du tubule rénal** ainsi que des **adénomes et des carcinomes des tubules rénaux** (les informations détaillées relatives à la cancérogénèse rénale sont décrites dans le § 3.7 Cancérogénicité). Par ailleurs, des **effets associés à l'accumulation de α_2 -microglobulines et de gouttelettes hyalines** ont été observés chez les rats mâles exposés par inhalation à l'éthylbenzène.

Chez les rats mâles, l'accumulation de α_2 -microglobuline dans les cellules épithéliales des tubules rénaux est associée à une nécrose tubulaire épithéliale, une prolifération régénérative et des tumeurs rénales. **Cette accumulation n'est pas observée chez les rats femelles, les souris, chez l'Homme ou encore chez les rats mâles ayant un défaut génétique de synthèse d' α_2 -microglobuline.** Les effets indésirables observés chez les rats mâles en lien avec une accumulation rénale d' α_2 -microglobuline **ne sont donc pas considérés comme transposables chez l'Homme** qui n'a pas cette protéine (US EPA, 1991).

Pour une exposition **subchronique** chez l'animal, les effets rénaux liés à une exposition à l'éthylbenzène par inhalation sont similaires à ceux observés après une exposition aiguë (augmentation du poids des reins, induction des enzymes rénales microsomales, et changements associés à l'accumulation de α_2 -microglobuline).

Plusieurs études ont montré que l'exposition des rats ou des souris à l'éthylbenzène par inhalation pour des durées allant de 4 semaines à 7 mois **augmente le poids relatif des reins** (Elovaara *et al.*, 1985 ; NIOSH, 1981 ; NTP, 1999 ; Stott *et al.*, 2003 ; Wolf *et al.*, 1956).

Elovaara *et al.* (1985) rapportent une **augmentation dépendante de la concentration, des enzymes rénales microsomales** (7-O-éthoxycoumarine dééthylase, UDP-glucuronyl-transférase) et de la concentration de glutathion rénale chez les rats après une exposition par inhalation de 5 à 16 semaines à des concentrations d'éthylbenzène allant de 50 à 600 ppm.

D'après Stott *et al.* (2003), les **modifications histopathologiques des reins** observées chez des rats mâles exposés à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines comprennent des changements induits par l' α_2 -microglobuline (variations de taille et de coloration du noyau ; vacuolisation ou diminution de la quantité de cytoplasme). Chez des rats mâles exposés à 600 ppm d'éthylbenzène pour une durée allant jusqu'à 7 mois, les modifications de l'histopathologie rénale observées incluent un gonflement de l'épithélium tubulaire (Wolf *et al.*, 1956).

Pour une exposition **chronique** chez l'animal, les effets rénaux observés sont plus graves. L'exposition chronique par inhalation à l'éthylbenzène pendant 2 ans induit chez les rats mâles une augmentation de la gravité de la **néphropathie progressive chronique** et une **hyperplasie du**

tubule rénal significatives à la plus forte dose d'éthylbenzène testée (750 ppm soit 3260 mg.m⁻³) et chez les rats femelles, une **augmentation de la gravité de la néphropathie progressive chronique** significative à la plus faible dose d'éthylbenzène testée (75 ppm soit 326 mg.m⁻³), mais pas chez les souris. La néphropathie progressive chronique est une maladie se manifestant spontanément chez les rats de laboratoire ; elle survient avec l'âge et sa progression ainsi que sa gravité dépendent de la souche de rat utilisée et de l'alimentation des rats au cours de l'étude (Hard *et al.*, 2009). En dépit du fait qu'une néphropathie liée à l'âge ait été observée chez les rats témoins, sa gravité était augmentée chez les rats femelles exposés à ≥ 75 ppm d'éthylbenzène ainsi que chez des rats mâles exposés à 750 ppm d'éthylbenzène comparativement aux animaux contrôles (NTP, 1999).

L'incidence de l'hyperplasie tubulaire rénale (considérée comme un effet pré néoplasique) était significativement augmentée chez les rats mâles exposés à 750 ppm.

3.5.2.3 Effets cardio-vasculaires

Une exposition **subchronique** ou **chronique** à l'éthylbenzène n'a **pas mis en évidence l'apparition d'effets cardiovasculaires**, sur la base des observations de l'histopathologie du tissu cardiaque.

Aucun effet histopathologique n'a été observé sur le tissu cardiaque chez des rats ou souris exposés par inhalation à 782 ppm pendant 4 semaines ainsi que chez des lapins exposés à 1610 ppm pendant 4 semaines (Cragg *et al.*, 1989). De la même manière, les résultats de l'étude du NTP (1992) n'ont relevé aucun effet cardiovasculaire chez des rats ou souris exposés par inhalation à 975 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours. Wolf *et al.* (1956) n'ont observé aucun effet cardiovasculaire chez des rats exposés par inhalation à 2200 ppm d'éthylbenzène pendant 6 mois, chez des cochons d'Inde ou des lapins exposés par inhalation à 1250 ppm d'éthylbenzène pendant 6 mois, ainsi que chez des singes exposés à 600 ppm d'éthylbenzène pendant 6 mois. Enfin, aucun effet histopathologique n'a été observé sur les tissus cardiovasculaires de rats ou souris exposés par inhalation à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 2 ans (NTP, 1999).

3.5.2.4 Effets digestifs

Chez l'animal, **aucun effet digestif** n'a été observé suite à une exposition **subchronique** ou **chronique** à l'éthylbenzène par inhalation.

Cragg *et al.* (1989) n'ont observé aucun changement de l'aspect macroscopique ni aucun effet histopathologique délétère au niveau des intestins chez des rats et des souris exposées à 782 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines ainsi que chez des lapins exposés à 1610 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines. Les résultats de l'étude du NTP (1992) n'ont mis en évidence aucun changement histopathologique du tissu gastro-intestinal chez des rats ou des souris exposés par inhalation à ≤ 975 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours. Les résultats de l'étude du NTP (1999) réalisée pour une durée d'exposition de 2 ans n'ont montré aucun changement histopathologique du tissu gastro-intestinal chez des rats ou des souris exposés à ≤ 750 ppm d'éthylbenzène.

3.5.2.5 Effets musculo-squelettiques

Chez l'animal, aucun effet musculo-squelettique n'a été observé pour une exposition **subchronique** ou **chronique** à l'éthylbenzène par voie inhalée.

Les observations histopathologiques du tissu osseux réalisées par Cragg *et al.* (1989) n'ont révélé aucune anomalie chez des rats ou des souris exposés par inhalation à 782 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines ainsi que chez des lapins exposés à 1610 ppm pendant 4 semaines. Aucun effet sur le tissu osseux n'a été observé chez des rats ou des souris exposés à 975 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours (NTP, 1992). De la même manière, les résultats de l'étude du NTP (1999) n'ont montré aucun effet sur le tissu osseux chez des rats ou des souris exposés par inhalation à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 2 ans.

3.5.2.6 Effets hématologiques

Les études utilisant des modèles animaux donnent des résultats contradictoires quant aux effets hématologiques liés à l'inhalation **subchronique** ou **chronique** d'éthylbenzène.

Dans une étude de Cragg *et al.* (1989), chez les rats mâles exposés à 782 ppm d'éthylbenzène par inhalation pendant 4 semaines, la numération plaquettaire était significativement diminuée et chez les rats femelles exposés à 782 ppm d'éthylbenzène par inhalation, la numération leucocytaire totale était significativement augmentée. Par ailleurs, dans cette même étude, aucun effet hématologique n'a été observé chez les rats mâles ou femelles exposés pendant 4 semaines à des concentrations d'éthylbenzène ≤ 382 ppm, chez les souris exposées pendant 4 semaines à des concentrations d'éthylbenzène ≤ 782 ppm ainsi que chez des lapins exposés à des concentrations d'éthylbenzène ≤ 1610 ppm pendant 4 semaines. En se basant sur les résultats de la numération sanguine complète avec analyse de la morphologie des érythrocytes et du contenu de l'hémoglobine, les résultats de l'étude de Stump (2004) n'ont mis en évidence aucun effet hématologique chez des rats femelles exposés par inhalation à des concentrations quotidiennes d'éthylbenzène ≤ 500 ppm pendant 28 jours. Aucun effet hématologique n'a été observé chez les rats ou les souris exposés par inhalation à 975 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours (NTP, 1992). D'après Wolf *et al.* (1956), aucun effet hématologique n'a été observé chez les rats exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène $\leq 2,200$ ppm pendant 6 mois, chez des cochons d'Inde ou des lapins exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène $\leq 1,250$ ppm pendant 6 mois ainsi que chez des singes exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène ≤ 600 ppm pendant 6 mois.

3.5.2.7 Effets hépatiques

Chez l'animal, **les effets hépatiques observés pour une exposition aiguë sont également rapportés pour une exposition subchronique ou chronique** : augmentation du poids du foie, induction des enzymes microsomales hépatiques et modifications de l'ultrastructure des hépatocytes. Des **changements de l'histologie hépatique** ont également été observés pour des expositions subchronique et chronique, se manifestant le plus souvent par une hypertrophie hépatocytaire (rats et souris des 2 sexes) mais pouvant aller jusqu'à une nécrose des hépatocytes (souris).

L'exposition **subchronique** par inhalation induit des **augmentations significatives du poids relatif du foie** chez des rats femelles exposés par inhalation pendant 15 jours à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 250 ppm (Saillenfait *et al.*, 2006), chez des rats et des souris exposés par inhalation à 782 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines (Cragg *et al.*, 1989), chez des rates gestantes ou non-gestantes ainsi que chez des lapines gestantes exposées à 1000 ppm d'éthylbenzène pendant 3 semaines avant l'accouplement et pendant la gestation (NIOSH, 1981). Les résultats de l'étude du NTP (1992) ont mis en évidence des augmentations significatives du poids relatif du foie chez des rats et des souris exposés respectivement à 246 et 740 ppm d'éthylbenzène par inhalation pendant 90 jours. Une augmentation du poids du foie a également été observée dans l'étude de Wolf *et al.* (1956) chez des rats exposés à 400 ppm d'éthylbenzène pendant 6 mois ainsi que chez des cochons d'Inde et des singes exposés à 600 ppm d'éthylbenzène pendant 6 mois. Dans l'étude de Stott *et al.* (2003), une augmentation statistiquement significative du poids relatif du foie ($\leq 7\%$ par rapport aux animaux témoins) a été observée chez les souris B6C3F1 mâles et femelles exposées par inhalation à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 1 à 4 semaines. Cette augmentation n'a pas été observée pour une exposition à 75 ppm d'éthylbenzène (Stott *et al.*, 2003).

Elovaara *et al.* (1985) ont observé une **induction des enzymes microsomales hépatiques** (protéine totale cytochrome P-450, 7-éthoxycoumarine-o-dééthylase, aminopyrine N-déméthylase) chez les rats exposés par inhalation à 50 ppm d'éthylbenzène pendant 16 semaines ainsi que des **changements dans l'ultrastructure des hépatocytes** (prolifération du réticulum endoplasmique lisse, légère dégranulation du réticulum endoplasmique rugueux) chez des rats exposés à 50 ppm d'éthylbenzène pendant 2 à 15 semaines. Dans l'étude de Stott *et al.* (2003), les activités des enzymes hépatiques sériques (alanine transaminase, transpeptidase aspartate, la phosphatase alcaline, et γ -glutamyl transpeptidase) des souris mâles et femelles n'étaient pas augmentées par rapport aux animaux témoins, quelle que soit la dose testée.

Des **modifications de l'histopathologie hépatique** ont été observées dans l'étude de Saillenfait *et al.* (2006) qui rapporte une hypertrophie modérée à marquée, avec un cytoplasme clair des hépatocytes périportaux, chez les rats femelles exposés par inhalation pendant 15 jours à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 250 ppm ainsi que dans l'étude de Wolf *et al.* (1956) qui décrit un gonflement des hépatocytes chez les rats exposés par inhalation à 2200 ppm pendant 6 mois. Aucune modification histopathologique du foie n'a été observée chez les animaux exposés dans l'étude du NTP (1992). L'analyse histopathologique des souris mâles et femelles exposées par inhalation dans l'étude de Stott *et al.* (2003) a révélé une hypertrophie hépatocellulaire, des figures mitotiques, et une synthèse d'ADN en phase S pour des concentrations de 750 ppm d'éthylbenzène pendant 1 à 4 semaines.

L'exposition **chronique** par inhalation à l'éthylbenzène pendant 2 ans induit chez la souris une toxicité hépatique, marquée par des **changements histopathologiques hépatiques** : altérations des hépatocytes, hypertrophie hépatocellulaire et nécrose des hépatocytes. Ces effets ne sont pas observés chez le rat. Chez les souris mâles, les altérations des hépatocytes (hépatocytes agrandis contenant plusieurs noyaux), dont l'incidence et la gravité étaient dépendantes de la concentration, ont été observées dès 75 ppm d'éthylbenzène. Une hypertrophie ainsi qu'une nécrose des

hépatocytes ont été observées pour une exposition des souris mâles à 750 ppm (NTP, 1999). Chez les souris femelles exposées à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 2 ans, **l'incidence et la gravité des foyers éosinophiles (considérés comme des lésions pré-néoplasiques) étaient augmentées** (NTP, 1999).

3.5.2.8 Effets neurologiques

Chez les animaux exposés par inhalation à l'éthylbenzène pour des durées **subchroniques** ou **chroniques**, les signes généraux de neurotoxicité n'ont pas été observés. L'effet neurologique le plus grave observé pour une exposition subchronique par inhalation à l'éthylbenzène est l'ototoxicité, caractérisée par une détérioration des seuils auditifs et une altération de la morphologie cochléaire.

D'après Cragg *et al.* (1989), aucun changement de comportement, aucun signe clinique de neurotoxicité ni aucune modification histopathologique des tissus nerveux n'ont été observés chez des rats ou des souris exposés pendant 4 semaines à des concentrations d'éthylbenzène allant jusqu'à 782 ppm ou chez des lapins exposés pendant 4 semaines à des concentrations d'éthylbenzène allant jusqu'à 1610 ppm; une salivation sporadique a été observée chez les rats à des doses d'éthylbenzène ≥ 382 ppm. Dans l'étude du NTP (1992) réalisée pour une durée de 90 jours, aucun effet histopathologique néfaste n'a été observé sur les tissus cérébraux des rats et des souris exposés par inhalation à des doses allant jusqu'à 975 ppm. Par ailleurs, aucun effet indésirable n'a été relevé dans les tissus cérébraux des rats et des souris exposés pendant 2 ans à des concentrations d'éthylbenzène jusqu'à 750 ppm (NTP, 1999).

Les effets ototoxiques de l'éthylbenzène par inhalation ont été observés chez les rats après une exposition subchronique. Dans une étude de Gagnaire *et al.* (2007) conduite chez le rat pour une exposition par inhalation à l'éthylbenzène 6 heures/jour, 6 jours/semaine pendant 13 semaines, les déficits auditifs causés par l'éthylbenzène durant la période d'exposition persistaient 8 semaines après l'exposition, chez les rats exposés à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 400 ppm. Les analyses histologiques réalisées 8 semaines après l'exposition ont mis en évidence des pertes significatives des cellules ciliées externes chez les rats exposés à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 200 ppm. Des pertes de cellules ciliées internes (14-32%) ont été observées chez les rats exposés à 600 et 800 ppm d'éthylbenzène, et de manière non systématique chez les rats exposés à 400 ppm d'éthylbenzène (Gagnaire *et al.*, 2007).

3.5.2.9 Effets immunologiques

Des effets immunologiques mineurs, sans modification histopathologique associée ont été rapportés dans 2 études pour une exposition **subchronique** et **chronique** des animaux à l'éthylbenzène par inhalation.

D'après Cragg *et al.* (1989), le nombre total de leucocytes était significativement augmenté chez des rats femelles exposés à 782 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines, mais pas lorsque les concentrations d'exposition à l'éthylbenzène étaient ≤ 382 ppm. Chez des rates gestantes exposées à 1000 ppm d'éthylbenzène par inhalation avant l'accouplement et pendant la gestation ou seulement pendant la gestation, les poids absolu et relatif de la rate (l'organe) étaient

augmentés, sans modifications histopathologiques associées (NIOSH, 1981). En revanche, chez des lapins exposés à 1000 ppm d'éthylbenzène par inhalation pendant la gestation, le poids de la rate n'a pas subi de modifications (NIOSH, 1981). Aucun changement n'a été observé dans l'histopathologie de la moelle osseuse (sternum), des ganglions lymphatiques, du thymus ou de la rate, chez des rats ou des souris exposées à 782 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines ainsi que chez des lapins exposés à 1610 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines (Cragg *et al.*, 1989). D'après Stump (2004), chez des rats femelles exposés 6 heures/jour pendant 28 jours à des concentrations d'éthylbenzène allant jusqu'à 500 ppm, aucun effet n'a été observé sur l'immunité humorale, le poids du thymus ou de la rate, ni sur les populations sanguines de leucocytes. Aucun effet sur l'histologie de plusieurs tissus lympho-réticulaires parmi lesquels les nœuds lymphatiques bronchiques, les ganglions lymphatiques régionaux, les ganglions lymphatiques mandibulaires et mésentériques, les ganglions lymphatiques médiastinaux, la rate ou le thymus, n'ont été observées chez des rats et des souris exposés par inhalation à 975 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours (NTP, 1992) ou à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 2 ans (NTP, 1999).

3.5.2.10 Effets sur le système endocrinien

En se basant sur les résultats des analyses histopathologiques des tissus endocriniens, plusieurs études ont rapporté qu'aucun effet endocrinien n'était observé chez les animaux de laboratoire exposés de manière **subchronique** (durées d'exposition allant de 4 semaines à 6 mois) à l'éthylbenzène par inhalation (Cragg *et al.*, 1989 ; NTP 1992 ; Wolf *et al.*, 1956).

Les résultats de l'étude du NTP (1999) rapportent en revanche qu'une exposition **chronique** à l'éthylbenzène (2 ans) est responsable d'une **hyperplasie de la thyroïde et de l'hypophyse**. Chez les souris femelles exposées par inhalation à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 2 ans, les auteurs ont observés une incidence accrue de l'hyperplasie des cellules folliculaires dans la glande thyroïde ; chez les souris femelles exposées par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 250 ppm, l'incidence de l'hyperplasie du lobe antérieur de l'hypophyse était significativement plus élevée que chez les animaux témoins. En revanche, chez des rats exposés par inhalation à 750 ppm d'éthylbenzène pendant 2 ans, aucun effet sur le système endocrinien n'a été observé (NTP 1999).

3.5.2.11 Autres effets systémiques

Effets sur le poids corporel

Plusieurs études chez l'animal ont examiné les effets d'une exposition **subchronique** ou **chronique** par inhalation à l'éthylbenzène sur le poids corporel.

D'après le NIOSH (1981), aucun changement dans le poids corporel n'a été observé chez des rates gravides ou des lapins exposés par inhalation respectivement à 985 et 962 ppm d'éthylbenzène, 3 semaines avant l'accouplement et pendant la gestation. Une diminution transitoire du gain de poids corporel (26-48%) a été observée au cours des 2^{ème}, 5^{ème} et 9^{ème} semaines, mais pas à 16 semaines, chez des rats mâles exposés à 600 ppm d'éthylbenzène pendant 16 semaines (Elovaara *et al.*, 1985). D'après les résultats de l'étude de Cragg *et al.*

(1989), aucun effet indésirable sur le poids corporel n'a été observé chez les rats ou les souris exposées par inhalation à 782 ppm ou chez les lapins exposés par inhalation à 1610 ppm d'éthylbenzène pendant 4 semaines. De la même manière, chez les rats femelles exposés quotidiennement pendant 28 jours à des concentrations d'éthylbenzène allant jusqu'à 500 ppm, aucun effet sur le poids corporel n'a été observé (Stump, 2004). Aucun effet sur le poids corporel n'a été observé chez des rats et des souris exposés à 975 ppm d'éthylbenzène pendant 90 jours (NTP, 1992) ou à des concentrations d'éthylbenzène allant jusqu'à 750 ppm pendant 2 ans (NTP, 1999).

3.5.3 Toxicité chronique par voie orale

Aucune étude n'a été recensée concernant des effets sanitaires chez l'Homme en lien avec des expositions subchronique ou chronique à l'éthylbenzène par voie orale.

Chez l'animal, des effets ototoxiques, hépatiques, rénaux et hématologiques ont été rapportés dans les études.

Effets ototoxiques

D'après l'étude de Gagnaire et Langlais (2005), des effets ototoxiques significatifs ont été observés chez les rats mâles exposés à 900 mg/kg/j d'éthylbenzène (la seule dose testée) par gavage pendant 2 semaines. Les auteurs ont rapporté une perte presque complète des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti au niveau de la 3^{ème} rangée de cellules ciliées externes, 10 jours après la dernière exposition à l'éthylbenzène. Cette étude n'avait pas mis en place un groupe de contrôle non exposé ; néanmoins, cette étude a montré que parmi les 21 solvants organiques auxquels ont été exposés les animaux, les pertes de cellules ciliées externes observées suivant une exposition à l'éthylbenzène étaient parmi les plus élevées (Gagnaire et Langlais, 2005). Aucuns changements comportementaux liés à l'éthylbenzène n'ont été observés chez les rats femelles exposés par gavage à des doses d'éthylbenzène de 13,6 à 680 mg/kg/j pendant 6 mois (Wolf *et al.*, 1956) ; aucun autre paramètre n'a été étudié. L'utilité de cette étude demeure limitée parce que les modifications de comportement observées ne sont pas spécifiées et que le protocole de l'étude a été mal décrit.

Effets hépatiques

Des effets indicatifs d'une toxicité hépatique ont été observés chez les rats mâles et femelles exposés par voie orale à l'éthylbenzène pendant 4 et 13 semaines (Mellert *et al.*, 2007). Après 4 semaines d'exposition, les signes d'hépatotoxicité observés comprenaient une augmentation des poids absolus et relatifs du foie (≥ 250 mg/kg/j chez les mâles et 750 mg/kg/j chez les femelles), une augmentation de l'incidence d'hypertrophie centro-lobulaire des hépatocytes (≥ 250 mg/kg/j chez les mâles et 750 mg/kg/j chez les femelles), et une augmentation de l'activité des enzymes sériques hépatiques (alanine aminotransférase) (750 mg/kg/j chez les mâles et les femelles) (Mellert *et al.*, 2007). Après 13 semaines d'exposition, une augmentation de l'activité des enzymes sériques hépatiques (alanine aminotransférase et γ -glutamyl transférase) chez les mâles

(≥ 250 mg/kg/j) et les femelles (750 mg/mg/jour), une augmentation des poids absolus et relatifs du foie (≥ 250 mg/kg/j chez les mâles et les femelles), et une augmentation dose dépendante de l'incidence de l'hypertrophie des hépatocytes centrolobulaires (≥ 250 mg/kg/j chez les mâles et les femelles) ont été observés.

L'augmentation de la bilirubinémie (≤ 250 mg/kg/j chez les mâles et 750 mg/kg/j chez les femelles), des protéines totales (750 mg/kg/j chez les femelles), de l'albumine (750 mg/kg/j chez les mâles et les femelles), des globulines (750 mg/kg/j chez les femelles), et du taux de cholestérol (≤ 250 mg/kg/j chez les mâles et les femelles) ainsi que la diminution du temps de prothrombine (750 mg/kg/j chez les mâles et ≥ 250 mg/kg/j chez les femelles) observés dans cette étude ont été considérés par les auteurs comme des effets adaptatifs du foie.

Chez les rats mâles du groupe exposé à 75 mg/kg/j, le poids relatif du foie était significativement augmenté (4% par rapport aux témoins) ; cependant, aucune modification histopathologique, ou augmentation de l'activité des enzymes hépatiques n'ont été observées à cette dose. Compte tenu du fait que l'éthylbenzène est un inducteur des enzymes microsomales, et en l'absence de signes histopathologiques ou autres preuves de lésions hépatiques pour des expositions à 75 mg/kg/j, l'augmentation du poids relatif du foie chez les rats mâles à cette posologie n'est pas considéré comme une preuve d'un effet néfaste sur le foie (Mellert *et al.*, 2007).

Des modifications histopathologiques caractérisées par un gonflement des cellules du parenchyme hépatique et une augmentation du poids du foie ont été observées chez les rats femelles ayant reçu par gavage des doses d'éthylbenzène de 408 mg/kg/j pendant 6 mois (Wolf *et al.*, 1956). Aucun autre changement hépatique n'a été signalé. Aucun effets hépatique n'a été observé chez les rats femelles ayant reçu par gavage des doses d'éthylbenzène de 136 mg/kg/j. Aucune conclusion n'a pu être tirée de ces résultats en raison de lacunes méthodologiques et du manque de détails dans la présentation des données, incluant les données sur l'incidence et les analyses statistiques.

Effets rénaux

Des effets rénaux ont été observés chez des rats mâles exposés par gavage à l'éthylbenzène pendant 13 semaines ; ces effets comprenaient une augmentation de la créatinine sérique (750 mg/kg/j), une augmentation de l'incidence des cellules épithéliales et des calcifications urinaires (≥ 250 mg/kg/j), une augmentation des poids absolu et relatif des reins (≥ 250 mg/kg/j), et une augmentation dose-dépendante de la gravité des néphropathies dues à la formation de gouttelettes hyalines (≥ 250 mg/kg/j) (Mellert *et al.*, 2007). Les effets indésirables rénaux observés chez les mâles étaient très probablement liés à l'accumulation d' α 2-microglobuline, et, par conséquent, ont été jugés non pertinents à considérer pour l'Homme. Des anomalies rénales similaires ont été observées chez les rats mâles exposés pendant 4 semaines (administration de l'éthylbenzène par gavage pendant 13 semaines au total).

Chez les rats femelles exposés par gavage à 250 et 750 mg/kg/j, les poids absolu des reins étaient significativement augmentés respectivement de 7 et 13% par rapport aux témoins. Cependant, aucune modification histopathologique ou altération des paramètres d'analyse urinaire n'ont été

observées, l'augmentation du poids des reins chez les femelles n'a pas été considérée comme une preuve de toxicité rénale. Une étude s'est intéressée aux effets rénaux suite à l'exposition de rats femelles par voie orale à des concentrations d'éthylbenzène de 13,6 à 680 mg/kg de poids corporel pendant 6 mois (Wolf *et al.*, 1956). Des modifications histopathologiques comme un gonflement de l'épithélium tubulaire rénal et une augmentation du poids des reins ont été observées pour des expositions à une dose de 408 mg/kg/j. Aucun autre changement rénal n'a été rapporté.

Comme pour les effets hépatiques, aucune conclusion n'a pu être tirée de ces résultats en raison de faiblesses dans la méthodologie et du manque de détails dans la présentation des données (par exemple, aucune donnée sur le nombre d'animaux présentant des effets rénaux, absence d'analyse statistique).

Effets hématologiques et immunologiques

Une diminution du nombre de plaquettes a été observée chez les rats femelles exposées par gavage à 750 mg/kg/j et une augmentation du volume corpusculaire moyen a été observée chez les rats mâles et femelles exposés par gavage à ≥ 250 mg/kg/j d'éthylbenzène pendant 13 semaines (Mellert *et al.*, 2007). Aucun effet sur les paramètres hématologiques n'a été observé chez les rats traités pendant 4 semaines (Mellert *et al.*, 2007). Aucun effet néfaste sur le nombre de cellules ou l'histopathologie de la moelle osseuse n'a été observé chez les rates exposés pendant 6 mois par voie orale à 13,6 à 680 mg/kg d'éthylbenzène (Wolf *et al.* 1956). L'utilité de cette étude est limitée car les résultats fournis sont peu décrits et limités.

Mellert *et al.*, (2007) ont observé que les poids absolus et relatifs du thymus étaient significativement diminués chez les rats femelles ayant reçu par gavage des doses d'éthylbenzène ≥ 250 mg/kg/j pendant 13 semaines, mais sans réaliser d'observations histopathologiques ; par conséquent, les auteurs n'ont pas considéré ces effets comme indésirables.

3.5.4 Toxicité chronique par voie cutanée

Aucune étude sur les effets sanitaires chez l'Homme suivant une exposition cutanée subchronique ou chronique à l'éthylbenzène n'a été identifiée.

3.6 Génotoxicité

Holz *et al.* (1995) n'ont rapporté **aucune augmentation des échanges de chromatides sœurs, de la formation d'adduits à l'ADN, de micronoyaux ni de cassures de l'ADN simple brin dans les lymphocytes périphériques** chez des travailleurs exposés à de faibles niveaux d'éthylbenzène atmosphérique en mélange avec d'autres hydrocarbures aromatiques (benzène, toluène et xylène) dans une usine de styrène.

Des **aberrations chromosomiques** ont été observées dans les lymphocytes du sang périphérique chez des travailleurs exposés de manière concomitante à l'éthylbenzène (0,2 à 13,1 mg.m⁻³) et au benzène (0,4 à 15,1 mg.m⁻³) atmosphériques (Sram *et al.*, 2004). Les résultats de cette étude montrent qu'une diminution de l'exposition des travailleurs (sans que les auteurs

n'aient rapporté les concentrations d'éthylbenzène et de benzène correspondantes) réduit le nombre d'aberrations chromosomiques observées ; néanmoins, en raison de l'exposition simultanée au benzène, il n'est pas possible d'établir une association entre des lésions chromosomiques et l'exposition à l'éthylbenzène seul.

Aucune modification significative de la formation de micronoyaux n'a été observée dans les érythrocytes du sang périphérique chez des souris B6C3F1 exposées par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de 500-1000 ppm 6 heures/jour, 5 jours/semaine, pendant 13 semaines (NTP, 1992, 1999) ou dans les érythrocytes polychromatiques provenant de la moelle osseuse de souris NMRI ayant reçu 2 doses quotidiennes de 0,37-0,75 ml/kg d'éthylbenzène par injection intrapéritonéale (Mohtashampur *et al.*, 1985).

L'exposition par inhalation de souris B6C3F1 à des concentrations d'éthylbenzène de 375 à 1000 ppm pendant 6 heures **n'a pas induit de réparation de l'ADN** (évalué par l'observation d'une synthèse non-programmée de l'ADN) dans les hépatocytes (Clay, 2001).

Les données de génotoxicité *in vivo* issues des études conduites chez les animaux de laboratoire sont présentées dans le Tableau 4 ci-après.

Le potentiel génotoxique de l'éthylbenzène a été étudié en utilisant principalement des essais *in vitro* chez *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, des cellules ovariennes de hamster chinois, des cellules de lymphomes de souris, des cellules embryonnaires de hamster syrien, et les lymphocytes humains. Les résultats de ces essais *in vitro* sont présentés dans le Tableau 4 ci-après.

Les données disponibles indiquent que l'éthylbenzène n'est **pas mutagène pour les cellules bactériennes** (Dean *et al.*, 1985 ; Degirmenci *et al.*, 2000 ; Florin *et al.*, 1980 ; Kubo *et al.*, 2002 ; Nestmann *et al.*, 1980 ; NTP, 1986, 1999 ; Zeiger *et al.*, 1992) **ou pour les levures** (Dean *et al.*, 1985 ; Nestmann et Lee, 1983) **en présence ou en l'absence d'une activation métabolique**.

Tableau 4 : Résultats des tests *in vivo* et *in vitro* de génotoxicité

ABERRATIONS CHROMOSOMIQUES			
Donner <i>et al.</i> (1980)	<i>In vivo</i>	Résultats négatifs (6h/j ; 5j/sem pdt 9, 14 et 18 sem)	Moelle osseuse (MO) de rats
NTP (1992,1999)	<i>In vitro</i>	Résultats négatifs	Cellules ovariennes de hamsters
Dean <i>et al.</i> (1985)		Résultats négatifs	cellules hépatiques de rats
TEST DES MICRONOYAUX			
NTP (1992,1999)	<i>In vivo</i>	Résultats négatifs (pdt 13 sem)	Lymphocytes de souris
Mohtashampur <i>et al.</i> (1985)		Résultats négatifs	Cellules de MO de souris
Engelhardt (2006)		Résultats négatifs	Cellules de MO de souris
Gibson <i>et al.</i> (1997)	<i>In vitro</i>	Résultats positifs	Cellules embryonnaires de hamsters
SYNTHESE D'ADN NON PROGRAMMEE			
Clay (2001)	<i>In vivo</i>	Résultats négatifs (6h)	Cellules hépatiques de souris
TEST DE LETALITE RECESSIVE LIEE AU SEXE CHEZ DES NON-MAMMIFERES			
Donner <i>et al.</i> (1980)	<i>In vivo</i>	Résultats négatifs	<i>Drosophila</i>
MUTAGENICITE			
McGregor <i>et al.</i> (1988)	<i>In vitro</i>	Résultats positifs	Cellules de lymphomes des souris
NTP (1992, 1999)			
NTP (1992, 1999)		Résultats négatifs	Tests d'Ames
Zeiger <i>et al.</i> (1992)			
Dean <i>et al.</i> (1985)			
Nestmann et Lee (1983)			
ÉCHANGE DE CHROMATIDES SŒURS			
Norppa et Vainio (1983)	<i>In vitro</i>	Résultats positifs	Lymphocytes humains
NTP (1992, 1999)		Résultats négatifs	Cellules ovariennes de hamsters
ESSAI DE TRANSFORMATION DE CELLULES			
Kerckaert <i>et al.</i> (1996)	<i>In vitro</i>	Résultats positifs (7 jours)	Cellules embryonnaires de hamsters
Casto et Hatch (1977)		Résultats négatifs	
DOMMAGES A L'ADN (TEST DES COMETES)			
Chen <i>et al.</i> (2008)	<i>In vitro</i>	Résultats positifs	Lymphocytes de sang humain
Toda <i>et al.</i> (2003)		Résultats positifs	ADN humain
Midorikawa <i>et al.</i> (2004)			
CONVERSION GENIQUE			
Leddy <i>et al.</i> (1995)	<i>In vitro</i>	Résultats négatifs	<i>Pseudomonas putida</i>

Les résultats des essais ont montré que l'éthylbenzène induisait des **mutations dans les cellules de lymphomes de souris à une concentration de 80 mg.L⁻¹** (plus forte dose non létale) sans activation métabolique (McGregor *et al.*, 1988; résultats également rapportés dans les études du NTP, 1992, 1999); cette concentration est proche de la concentration létale mentionnée dans cette étude comme étant 100 mg.L⁻¹. De la même manière, **aucun changement dans la survenue de mutations directes dans des cellules de lymphomes de souris (avec ou sans activation) n'a été observé à des concentrations d'éthylbenzène ≤ 50 mg.L⁻¹** (Seidel *et al.*, 2006). Dans une troisième étude sur l'apparition de mutations directes dans les cellules de lymphomes de souris, Wollny (2000) a rapporté une réponse positive à des concentrations d'éthylbenzène cytotoxiques (34,4 et 68,8 µg.mL⁻¹ sans activation métabolique et 825 µg.mL⁻¹ avec activation); toutefois, 2 répétitions de cette expérience ne sont pas parvenues à montrer une réponse mutagène positive.

D'après Norppa et Vainio (1983), l'éthylbenzène est capable de provoquer un échange minime de chromatides sœurs dans les lymphocytes humains; cependant, la réaction positive n'a été observée qu'à une concentration très élevée et cytotoxique (10 mM). Les résultats des essais *in vitro* ont également montré que l'éthylbenzène n'induisait pas d'échanges de chromatides sœurs dans les cellules ovariennes de hamster chinois (NTP 1986, 1999) ni d'aberrations chromosomiques dans les cellules de hamster chinois (NTP 1986, 1999) ou dans les cellules de foie de rat (Dean *et al.*, 1985).

Une augmentation dose dépendante de la formation de micronoyaux a été observée dans des cellules d'embryon de hamster syrien testés pour des concentrations d'éthylbenzène de 25 à 200 µg.mL⁻¹ (Gibson *et al.*, 1997).

Une **augmentation significative des transformations morphologiques cellulaires** a également été observée dans des cellules d'embryon de hamster syrien exposées à des concentrations d'éthylbenzène de 150 ou 200 µg.mL⁻¹ pendant 7 jours (Kerckaert *et al.*, 1996); la concentration de 200 µg.mL⁻¹ était responsable d'une cytotoxicité significative. Dans cette même étude, aucune modification significative du pourcentage de transformations cellulaires n'a été observée lorsque les cellules étaient incubées avec de l'éthylbenzène pendant 24 heures.

Une série d'études menées par Chen *et al.* (2008) ont évalué le potentiel de l'éthylbenzène à induire des lésions de l'ADN dans les lymphocytes humains. **Une augmentation significative des cassures simple brin** a été observée à 100 et 200 µM (de 10 à 20 µg.mL⁻¹); aucune modification des cassures double brin n'a été rapportée à 200 µM. L'étude a également montré une **diminution significative des lésions de l'ADN** dans des cellules prétraitées avec des pièges de spin, ce qui suggère que les lésions de l'ADN pourraient être dues à la génération d'espèces réactives de l'oxygène.

En résumé, l'éthylbenzène n'a pas présenté d'activité mutagène ou clastogène lors des essais *in vivo*; des résultats négatifs ont été obtenus lors d'essais d'aberrations chromosomiques dans la moelle osseuse du rat et lors de tests du micronoyau chez la souris. Les résultats des tests de mutagenicité *in vitro* indiquent que l'éthylbenzène n'est pas mutagène pour les cellules bactériennes, les levures (avec et sans activation métabolique) ou les cellules de mammifères non humaines, à l'exception d'un résultat positif lors d'un essai de

mutation de cellules de lymphomes de souris L5178Y, mais à des concentrations induisant une cytotoxicité significative.

Concernant les autres essais *in vitro* sur des cellules de mammifères, à l'exclusion des études qui ont testé des concentrations d'éthylbenzène cytotoxiques ou très proches, peu de résultats s'avèrent positifs.

L'ATSDR et Santé Canada concluent que dans leur ensemble, les résultats des études de génotoxicité *in vivo* et *in vitro* disponibles suggèrent que l'éthylbenzène n'est pas génotoxique.

3.7 Cancérogénicité

L'éthylbenzène a été classé dans le groupe D par l'US EPA en tant que « substance non classifiable quant à sa cancérogénicité pour l'homme » (US EPA (IRIS), 1991). Néanmoins, l'évaluation a été menée en 1991, avant la publication des résultats d'un essai biologique de 2 ans sur la cancérogénicité de l'éthylbenzène par inhalation, conduit chez les rongeurs par le National Toxicology Program (NTP) en 1999 ; cette étude a mis en évidence chez les rats, une **augmentation de l'incidence de tumeurs des tubules rénaux** et chez la souris, une **incidence accrue des tumeurs alvéolaires/bronchiolaires et des tumeurs hépatocellulaires (NTP, 1999)**. L'évaluation menée en 2000 par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a conclu que l'éthylbenzène était **potentiellement cancérogène pour les humains (classification dans le groupe 2B)**, sur la base de niveaux de preuves suffisants chez l'animal et insuffisants chez l'homme (CIRC, 2000). En 2002, l'éthylbenzène est classé dans le groupe A3 « agent cancérogène confirmé pour les animaux avec pertinence inconnue vis-à-vis des humains » par l'ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) (équivalent au groupe 2B du CIRC). L'éthylbenzène n'est pas classé par l'Union Européenne.

3.7.1 Toxicité chez l'Homme par voie respiratoire

Aucune association n'a été mise en évidence entre la survenue de cancer chez l'Homme et l'exposition professionnelle à l'éthylbenzène.

Chez des travailleurs exposés à l'éthylbenzène, le suivi biologique (entre autres, mesure des niveaux urinaires d'acide mandélique) a été réalisé pendant 20 ans, aucun cas de cancer n'a été observé (Bardodej et Cirek, 1988). Cependant, dans cette étude, aucune information sur les concentrations d'exposition à l'éthylbenzène n'était rapportée et Bardodej et Cirek (1988) ont calculé à partir des données de biosurveillance, une concentration atmosphérique moyenne de $6,4 \text{ mg.m}^{-3}$ (comme décrit précédemment §3.5.1.6 Effets hématologiques) ; en l'absence de concentrations mesurées d'éthylbenzène, aucune conclusion claire ne peut être tirée de cette étude. Par ailleurs, la faible concentration d'exposition à l'éthylbenzène estimée limite la puissance de cette étude pour détecter tout effet.

Aucune autre étude n'a été identifiée concernant les effets cancérogènes de l'éthylbenzène chez l'Homme en lien avec une exposition par inhalation.

3.7.2 Toxicité chez l'animal par voie respiratoire

Les informations concernant la cancérogénicité de l'éthylbenzène chez l'animal proviennent d'un essai biologique du NTP conduit chez des rongeurs (rats et souris) mâles et femelles exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de 0, 75, 250, ou 750 ppm (0, 326, 1090, ou 3260 mg.m⁻³) pendant 2 ans (NTP, 1999).

Le NTP (1999) a conclu que l'exposition chronique à l'éthylbenzène a mis en évidence :

- des **signes évidents d'une activité cancérogène chez les rats mâles**, sur la base de l'observation d'une incidence accrue de tumeurs des tubules rénaux et des adénomes testiculaires ;
- des **éléments de preuves d'une activité cancérogène chez les rats femelles** sur la base de l'observation d'une incidence accrue des adénomes des tubules rénaux ;
- des **éléments de preuves d'une activité cancérogène chez les souris mâles** sur la base de l'observation d'une incidence accrue des tumeurs alvéolaires/bronchiolaires ;
- des **éléments de preuves d'une activité cancérogène chez les souris femelles** d'après l'observation d'une augmentation de l'incidence des tumeurs hépatocellulaires.

L'incidence des adénomes testiculaires était également augmentée de manière significative chez les mâles exposés à 750 ppm (80 à 88% des mâles). Santé Canada précise que des adénomes testiculaires sont présents chez presque tous les rats âgés de cette souche ; cette valeur d'incidence s'inscrit dans la plage de distribution des témoins historiques du NTP (54 à 83%).

Chez les souris mâles exposées à 750 ppm, **les incidences des adénomes alvéolaires / bronchiolaires et des adénomes ou carcinomes alvéolaires / bronchiolaires (combinés) étaient significativement plus élevés** comparativement aux animaux témoins.

Aucune augmentation significative de l'incidence des lésions pulmonaires néoplasiques n'a été observée chez les rats femelles.

Les incidences des adénomes hépatocellulaires et des adénomes ou carcinomes hépatocellulaires (combinés) étaient significativement plus élevées chez les souris femelles exposées à 750 ppm comparativement aux animaux du groupe contrôle. Santé Canada précise que cette valeur d'incidence s'inscrit dans la plage de distribution des témoins historiques du NTP (3 à 54%). Chez ces souris et pour une même dose d'exposition, l'incidence des **foyers éosinophiles au niveau du foie** était significativement plus élevée que chez les animaux témoins ; ces lésions hépatocellulaires ont été considérées comme pré-néoplasiques. Aucun adénome ou carcinome hépatocellulaire n'a été observé chez les souris mâles.

3.7.3 Toxicité par voie orale

Aucune étude chez l'Homme ne s'est intéressée aux effets cancérigènes après une exposition subchronique ou chronique à l'éthylbenzène par voie orale.

La cancérogénicité de l'éthylbenzène par voie orale a été évaluée chez les rats Sprague-Dawley suivant une exposition chronique (Maltoni *et al.*, 1985). Une augmentation statistiquement significative des tumeurs malignes totales a été rapportée chez les rats femelles et par agrégation, chez les rats des 2 sexes exposés par gavage à 500 mg/kg/j pendant 104 semaines ; cet effet était encore observé à la semaine 141. Aucune donnée sur le type de tumeur ne sont présentées dans l'étude, une seule dose a été testée, et aucune information sur la survie n'était fournie.

Maltoni *et al.* (1997) ont également conduit un essai biologique chez des rats pour une exposition chronique par voie orale à l'éthylbenzène. Les auteurs ont observé une augmentation de l'incidence des **tumeurs des fosses nasales**, des **esthésio-neuro-épithéliomes** et des **tumeurs de la cavité buccale** (analyse statistique non fournie) chez des rats exposés par gavage à 800 mg/kg p.c. par jour d'éthylbenzène, pendant deux ans.

Lors de l'évaluation de la cancérogénicité de l'éthylbenzène en 1991, l'US EPA n'a identifié aucune étude appropriée pour la détermination d'une VTR qualitative ou quantitative par voie orale (US EPA (IRIS), 2011). L'OEHHA a développé en 2007, des VTR pour le cancer chez l'Homme suite à une exposition par voie orale, sur la base de l'étude par inhalation du NTP (1999) (OEHHA, 2008).

3.7.4 Toxicité par voie cutanée

Aucune étude chez l'Homme ou chez l'animal ne s'est intéressée aux effets cancérogènes après une exposition subchronique ou chronique à l'éthylbenzène par voie cutanée.

3.8 Toxicité sur la reproduction et le développement

SYNTHÈSE DES NIVEAUX DE PREUVE DE DANGER PAR PÉRIODES D'EXPOSITION		
	À partir de données humaines	À partir de données animales
Fertilité homme	Pas de donnée disponible	Pas d'effet
Fertilité femme	Pas de donnée disponible	Pas d'effet
Période équivalente au 1 ^{er} trimestre chez la femme	Pas de donnée disponible	Pas d'effet significatif retenu
Période équivalente aux 2 ^{ème} et 3 ^{ème} trimestres chez la femme	Fœtotoxicité : pas de donnée disponible	Pas d'effet significatif retenu
	Effet sur le développement post-natal : pas de donnée disponible	Effets sur le développement post-natal : pas d'effet
Allaitement ou exposition post-natale	Pas de donnée disponible	Pas de donnée disponible (allaitement)

Légende Pas d'effet Pas d'évaluation possible Preuves limitées d'un effet Preuves suffisantes d'un effet

Figure 2 : Extrait de la fiche Demeter (Documents pour l'évaluation médicale des produits toxiques vis-à-vis de la reproduction) Ethylbenzène (INRS, 2010b)

3.8.1 Toxicité chez l'Homme par voie respiratoire

Aucune étude chez l'Homme concernant les effets toxiques sur la reproduction ou le développement après une exposition par inhalation à l'éthylbenzène n'a été recensée.

3.8.2 Toxicité chez l'animal par voie respiratoire

Effets sur la reproduction

Aucun effet significatif sur la reproduction n'a été mis en évidence par les études chez l'animal; des modifications histologiques ponctuelles ont été observées, mais les résultats de la plupart des études sont négatifs.

Aucun effet nocif significatif sur la fertilité n'a été observé chez les rats et les lapins femelles exposés à des concentrations approximatives d'éthylbenzène de 100 à 1000 ppm (4348 mg/m³), 3 semaines avant l'accouplement et pendant la gestation (NIOSH, 1981).

Faber *et al.* (2006) ont évalué chez le rat les effets potentiels d'une exposition par inhalation corps entier à l'éthylbenzène sur la capacité de reproduction. Cette étude de reprotoxicité a été conduite sur 2 générations de rats parents (F0 et F1) exposés 6 heures/jour à 0, 25, 100 ou 500 ppm d'éthylbenzène, pendant au moins 70 jours consécutifs avant l'accouplement. L'exposition par

inhalation corps entier des rats femelles (F0 et F1) s'est poursuivie jusqu'au 20^{ème} jour de gestation, ainsi que du 5^{ème} au 21^{ème} jour de lactation. Du 1^{er} au 4^{ème} jour de lactation, l'éthylbenzène a été administré par voie orale (dans de l'huile de maïs) à des doses de 0, 26, 90 ou 342 mg/kg/j. L'exposition par voie orale entre le 1^{er} et le 4^{ème} jour de lactation avait pour objectif de maintenir les mêmes concentrations sanguines maternelles que l'exposition par inhalation ; les doses administrées ont été calculées par le biais d'un modèle pharmacocinétique physiologique (PBPK). Les rats ont été sevrés à 21 jours et l'exposition de la génération F1 a démarré le 22^{ème} jour après la naissance.

Les auteurs ont observé que **la durée du cycle œstral était significativement réduite** chez les rats femelles de la génération F0 exposés à 500 ppm d'éthylbenzène comparativement au groupe contrôle (4 jours contre 4,4 jours pour les témoins) ; cette durée demeurait inchangée chez les rats femelles de la génération F1. Les auteurs ont considéré qu'il ne s'agissait pas d'un effet lié à l'exposition de l'éthylbenzène. Chez les rats femelles (ou mâles le cas échéant) des générations F0 et F1 exposés à des concentrations d'éthylbenzène allant jusqu'à 500 ppm, **les paramètres de la reproduction (indices d'accouplement ou de fertilité, durée de la gestation, nombre de sites d'implantation, nombre de naissances par portée, taille de la portée, etc.) n'ont pas été affectés ; aucun effet n'a été observé sur le nombre, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes.**

D'après les résultats d'une étude de l'Ethylbenzene Producers Association (1986), **aucune modification histologique n'a été observée dans les testicules** de rats, de souris ou de lapins exposés par inhalation pendant 4 jours à des concentrations d'éthylbenzène atteignant 2400 ppm.

Aucune anomalie de l'histologie testiculaire n'a été rapportée chez des rats et des souris exposés par inhalation pendant 4 semaines à 782 ppm (3400 mg/m³) d'éthylbenzène ainsi que chez des lapins exposés par inhalation pendant 4 semaines à des concentrations d'éthylbenzène atteignant 1610 ppm (7000 mg/m³) (Cragg et al., 1989).

Les résultats de l'étude du NTP (1992) ont rapporté une **absence d'effet sur la morphologie des spermatozoïdes et des testicules ou sur la durée du cycle œstral** chez les rats ou les souris exposés par inhalation à 975 ppm (4348 mg/m³) d'éthylbenzène pendant 90 jours. Chez les souris exposées à 1000 ppm d'éthylbenzène, une diminution du poids de l'épididyme a été observée ; cette observation n'a pas été considérée comme biologiquement significative par les auteurs car il n'y avait pas de différence significative concernant le nombre de spermatozoïdes, la motilité des spermatozoïdes, ou le poids de l'épididyme caudal entre les animaux traités et les animaux du groupe contrôle.

D'après une étude de Wolf *et al.* (1956), l'exposition par inhalation de singes et de lapins mâles à une concentration de 600 ppm d'éthylbenzène pendant une durée de 6 mois a causé une **dégénérescence de l'épithélium germinale dans les testicules d'un singe et d'un lapin**. En revanche, les auteurs n'ont observé **aucun effet indésirable au niveau de l'histopathologie testiculaire des rats ou des cochons d'Inde** exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène atteignant respectivement 1250 ou 600 ppm, pour une durée de 6 à 7 mois.

En se basant sur les résultats de leur étude, Faber *et al.* (2006) ont considéré que **la NOAEC (No observed adverse effect concentration) concernant les effets toxiques pour la reproduction était de 500 ppm (2174 mg/m³)** pour une exposition par inhalation, quel que soit le sexe des animaux.

Effets sur le développement

Les effets sur le développement d'une exposition à l'éthylbenzène par inhalation avant l'accouplement et pendant la gestation ou pendant la gestation uniquement, ont été étudiés chez plusieurs espèces animales ; le rat (NIOSH, 1981; Ungváry et Tátrai, 1985), la souris (Ungváry et Tátrai, 1985), et le lapin (NIOSH, 1981; Ungváry et Tátrai 1985). Deux études menées sur 2 générations de rats, dirigées par la même équipe de recherche, se sont intéressées aux effets induits par une exposition par inhalation corps entier des rats parents des 2 générations avant l'accouplement et jusque pendant la lactation (Faber *et al.*, 2006, 2007).

Les résultats des études chez le rat indiquent que **l'éthylbenzène induit une réduction du poids du fœtus, des anomalies du développement squelettique ainsi que des anomalies et un retard de développement du tractus urogénital ; les anomalies du développement squelettique et urogénital ont été observées uniquement en présence de toxicité maternelle** (Faber *et al.*, 2006 ; NIOSH, 1981 ; Ungváry et Tátrai, 1985). D'après l'ATSDR, les études conduites par Faber *et al.* (2006, 2007) et par le NIOSH (1981) sont de très bonne qualité et conformes aux lignes directrices en vigueur. En revanche, l'interprétation des données issues de l'étude de Ungváry et Tátrai (1985) est limitée par une description incomplète des résultats et notamment parce qu'aucune analyse des résultats rapportée à chaque portée n'est fournie. Pour Santé Canada, des effets mineurs ont été observés sur le développement chez la progéniture des rongeurs et des lapins exposés à l'éthylbenzène pendant la gestation.

Dans l'étude de Ungváry et Tátrai (1985) menée chez des rats exposés *in utero* (du 7^{ème} au 15^{ème} jour de gestation) par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène allant de 138 à 552 ppm, les auteurs ont observé des **résorptions fœtales** et un **retard du développement squelettique** (dans 13, 26, 30, et 35% des fœtus exposés à 138, 276, et 552 ppm d'éthylbenzène, respectivement). D'après les auteurs, dans 7% des fœtus exposés à 552 ppm d'éthylbenzène (contre 1% dans le groupe contrôle), une augmentation de l'incidence de **l'apparition de côtes supplémentaires et des anomalies des voies urinaires** (sans que les effets ne soient spécifiés) ont été observées. Les auteurs de l'étude ont rapporté que la toxicité maternelle était modérée et dose-dépendante, mais sans fournir de détails supplémentaires. Dans cette même étude, l'incidence des anomalies des voies urinaires était augmentée chez la progéniture des souris exposées à 115 ppm d'éthylbenzène du 6^{ème} au 15^{ème} jour de gestation. **Aucune anomalie des voies urinaires n'a été observée dans les autres études sur le développement** (Faber *et al.*, 2006, 2007; Saillenfait *et al.*, 2003, 2006, 2007).

Chez les lapins exposés en continu du 7^{ème} au 20^{ème} jour de gestation, des **diminutions du poids corporel des fœtus femelles** ont été observées pour des concentrations d'éthylbenzène de 115 ppm ; une **augmentation des avortements** (3/3 avortements contre 0/60 dans le groupe

témoin) a été observée pour des concentrations d'éthylbenzène de 230 ppm (Ungváry et Tátrai, 1985). L'ATSDR précise que l'étude d'Ungváry et Tátrai (1985) ne fournit pas suffisamment de détails concernant les effets indésirables observés sur le fœtus et recommande donc d'être prudent quant à l'interprétation des résultats de cette étude.

Dans une étude du NIOSH (1981), des rats femelles ont été exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de 100 ou 1000 ppm 7h/jour jusqu'au 19^{ème} jour de gestation ou à des concentrations d'éthylbenzène de 1000 ppm 7h/jour, 5 jours par semaine, 3 semaines avant l'accouplement et pendant la gestation. Les auteurs ont observé une **réduction de la longueur cranio-caudale** et une **augmentation de l'incidence des côtes surnuméraires** chez la progéniture des rats exposés à 100 ppm pendant la gestation, mais pas chez la progéniture des rats exposés à 100 ppm avant accouplement et pendant la gestation. Aucune autre augmentation significative de malformations majeures ou mineures n'a été observée. Une toxicité maternelle (augmentation significative du poids relatif et absolu du foie, des reins et de la rate) a été observée chez les rats femelles exposés à 1000 ppm (4350 mg/m³) d'éthylbenzène avant accouplement et pendant la gestation ou pendant la gestation uniquement (NIOSH, 1981).

Chez les animaux des générations F1 ou F2 dont les mères ont été exposées par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de 25, 100 ou 500 ppm avant l'accouplement, pendant l'accouplement, la gestation et la lactation, la survie depuis la naissance jusqu'au 4^{ème} ou au 21^{ème} jour postnatal n'a pas été affectée (Faber *et al.*, 2006). **Un retard statistiquement significatif du clivage balano-préputial** a été observé chez les mâles F1 dans le groupe exposé à 500 ppm d'éthylbenzène, en dépit du fait que l'âge moyen de clivage dans ce groupe (44,7 jours) était similaire à celui observée dans le groupe des témoins historiques (44,8 jours). Aucun résultat macroscopique, ni aucun changement dans le poids des organes en lien avec l'exposition à l'éthylbenzène n'ont été observés chez les animaux de la génération F1, autopsiés 21 jours après la naissance.

Les résultats de l'étude de reprotoxicité de Faber *et al.* (2006), conduite sur 2 générations de rats, montrent que **l'âge moyen de l'acquisition de la perméabilité vaginale était significativement réduit** chez les femelles F1 exposées à des concentrations d'éthylbenzène de 25, 100 et 500 ppm; néanmoins, les valeurs obtenues dans les groupes exposés (de 33,3 à 33,9 jours) étaient semblables aux valeurs rapportées dans le groupe témoin historique (33,4 jours). Chez les animaux de la génération F2 (non exposés à l'éthylbenzène par inhalation), aucune différence concernant l'âge de la séparation du prépuce ou de l'acquisition de la perméabilité vaginale n'a été observée comparativement au groupe contrôle (Faber *et al.*, 2007).

Les étapes du développement (décollement de l'auricule, pousse des cheveux, éruption des incisives et ouverture des yeux) n'ont pas été affectées chez les animaux (mâles ou femelles) de la génération F1, exposés *in utero* par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de 25 à 500 ppm (Faber *et al.*, 2006). Parmi les animaux de la génération F2 exposés *in utero*, des retards statistiquement significatifs de la pousse des cheveux ont été observés chez les mâles et les femelles pour toutes les concentrations d'exposition ; un retard significatif de l'ouverture des yeux a été observé chez les mâles des groupes exposés à 25 ppm et 100 ppm d'éthylbenzène, mais pas dans le groupe exposé à 500 ppm (Faber *et al.*, 2007).

Faber *et al.* (2007) ont réalisé sur des sous-ensembles d'animaux de la génération F2, des tests afin d'évaluer le développement du système nerveux; aucune différence statistiquement significative dans l'analyse de la batterie d'observations fonctionnelles ou concernant le développement moteur (force de préhension des membres antérieurs ou postérieurs) en comparaison au animaux du groupe contrôles. Les données suggèrent une augmentation de l'activité motrice aux 13^{ème} et 17^{ème} jours après la naissance, chez les rats mâles et femelles de la génération F2 exposés à des concentrations d'éthylbenzène de 25 à 500 ppm ; cependant, il n'y avait aucune différence statistique de l'activité motrice aux 13^{ème}, 17^{ème} et 21^{ème} jours après la naissance entre les animaux exposés et les animaux témoins (Faber *et al.*, 2007). Une **augmentation statistiquement significative de l'activité motrice** a été observée au 61^{ème} jour après la naissance, chez les rats femelles de la génération F2, uniquement dans le groupe de rats exposés à 25 ppm d'éthylbenzène.

La réaction de sursaut n'était pas affectée chez les rats des 2 sexes de la génération F2 au 20^{ème} jour postnatal, ni chez les femelles au 60^{ème} jour postnatal ; les mâles de la génération F2 ont montré une réaction de sursaut statistiquement diminuée, mais cela a été attribué à des réponses très variables et anormales chez certains animaux de contrôle. L'évaluation des capacités de nager ainsi que des facultés d'apprentissage et de mémorisation menée dans un labyrinthe de Biel n'ont révélé aucun effet significatif chez les animaux de la génération F2 pour l'ensemble des concentrations d'exposition à l'éthylbenzène (Faber *et al.*, 2007). Quelle que soit la concentration d'exposition à l'éthylbenzène, aucun effet morphométrique ou histologique n'a été observé aux 21^{ème} et 72^{ème} jours après la naissance, sur le cerveau des animaux de la génération F2 (Faber *et al.*, 2007).

Une réduction du poids du fœtus a été observée chez les rats femelles exposés à 115 ppm d'éthylbenzène pendant la gestation (Ungváry et Tátrai, 1985). Chez la progéniture de lapins exposés à l'éthylbenzène, aucun effet n'a été observé sur la taille du fœtus, le poids du placenta, ou un retard de croissance intra-utérine ; il n'y avait aucune incidence significative de malformations majeures, d'anomalies mineures, ou de variations communes observées en l'absence de toxicité maternelle (NIOSH, 1981).

Lors d'études plus récentes sur la toxicité pour le développement, des **diminutions statistiquement significatives du poids des fœtus** ont été observées chez la progéniture de rates gravides exposées pendant la gestation à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 1000 ppm (4348 mg/m³) en présence d'une toxicité maternelle (Saillenfait *et al.*, 2003, 2006, 2007), mais pas chez les rats exposés à 500 ppm (Saillenfait *et al.*, 2003) ou à 250 ppm (Saillenfait *et al.*, 2006, 2007). Une **augmentation significative du nombre de fœtus présentant des malformations fœtales** (surtout des variations squelettiques) a été observée chez la progéniture de rats exposés à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 1000 ppm (Saillenfait *et al.*, 2003, 2006, 2007). D'après une analyse des résultats rapportée par portée, une augmentation significative de l'incidence des malformations fœtales était observé seulement pour une exposition à 2000 ppm (8696 mg/m³) d'éthylbenzène (Saillenfait *et al.*, 2003). Une **toxicité maternelle** (réduction significative du gain de poids comparativement aux animaux témoins) a été observée chez les rats exposés à des concentrations d'éthylbenzène ≥ 1000 ppm (Saillenfait *et al.*, 2003, 2006, 2007).

3.8.3 Toxicité par voie orale

Une étude sur la reproduction au cours de laquelle l'éthylbenzène a été administré par voie orale a été identifiée. Il s'agit de l'étude d'Ungváry (2006), dans laquelle des rats femelles ont été exposées à 500 ou 1000 mg/kg/j. Cette étude a mis en évidence une **réduction des concentrations hormonales périphériques au cours du cycle œstral, ainsi qu'un blocage ou un retard de ce cycle** chez les rats femelles. Cette étude présente de nombreuses lacunes méthodologiques.

3.8.4 Toxicité par voie respiratoire

Aucune étude n'a pu être recensée.

3.9 Mécanismes d'action

Les données décrites dans ce chapitre concernant les mécanismes d'action impliqués dans la toxicité de l'éthylbenzène sont citées dans les rapports de l'ATSDR et de Santé Canada (ATSDR, 2010 ; Santé Canada, 2014) ainsi que dans le rapport de l'Anses sur la coexposition professionnelle au bruit et aux substances chimiques (Anses, 2013).

Les mécanismes à l'origine de l'ototoxicité, des effets sur le système nerveux central ainsi que des toxicités hépatique et rénale (notamment cancérigènes) n'ont pas été élucidés ; des données sont néanmoins disponibles concernant les possibles mécanismes impliqués dans l'apparition des effets ototoxiques et sur le système nerveux central.

Quelques études sur l'éthylbenzène et ses métabolites fournissent des pistes sur le rôle potentiel du composé parent (éthylbenzène lui-même) et des métabolites dans l'induction des effets ototoxiques et cancérigènes observés chez l'animal.

3.9.1 Ototoxicité

L'exposition par inhalation des animaux à l'éthylbenzène induit une perte d'audition causée par la perte irréversible des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti (Cappaert *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2002 ; Gagnaire and Langlais, 2005 ; Gagnaire *et al.*, 2007). En outre, les solvants organiques sont connus comme étant des substances neurotoxiques et en plus de la toxicité cochléaire, une altération de l'audition liée à une atteinte du système nerveux central est également soupçonnée (Anses, 2013). Selon Campo *et al.* (2014), l'exposition aux solvants aromatiques dont l'éthylbenzène entraîne 2 effets distincts sur le système auditif : un effet neuropharmacologique immédiat sur les récepteurs neuronaux impliqués dans les réflexes olivo-cochléaires et stapédiens (réflexes de protection de l'oreille qui se déclenchent lorsque les niveaux de bruit sont élevés) et un effet cochléotoxique retardé sur le récepteur périphérique (altérations des structures cochléaires causées par le transport par voie sanguine des substances chimiques au niveau de la cochlée). Quelques éléments de définition concernant l'anatomie fonctionnelle du système auditif sont disponibles en Annexe 2.

D'après Cappaert *et al.* (2002), le fait qu'aucun effet ototoxique (basée sur les seuils auditifs et l'évaluation histologique de cochlée) ne soit observé chez les cochons d'Inde exposés à

l'éthylbenzène par inhalation serait lié à de plus faibles **taux d'éthylbenzène circulants**, comparativement aux niveaux induisant une ototoxicité chez les rats.

Une étude exposant des rats par voie orale à environ 293 mg/kg/j d'acide phénylglyoxylique (métabolite majeur de l'éthylbenzène) pendant 3 mois a montré que ce métabolite n'induisait pas d'effets ototoxiques (sur la base de tests électrophysiologiques). Si cette étude apporte des preuves selon lesquelles l'acide phénylglyoxylique ne serait pas ototoxique, elle n'a pas évalué la perte des cellules ciliées externes (Ladefoged *et al.*, 1998). Dans leur étude, Pryor *et al.* (1991) suggèrent que la perte d'audition induite par le toluène, qui est structurellement proche de l'éthylbenzène, serait causée par le composé parent, plutôt que par ses métabolites. Selon cette étude, un traitement préalable des rats au phénobarbital (inducteur du métabolisme CYP450 du toluène) préviendrait l'apparition de l'ototoxicité. Pris ensemble, **les résultats de ces 2 études suggèrent que ce serait plutôt l'éthylbenzène lui-même plutôt que ses métabolites, qui serait responsable de l'ototoxicité.**

Les **propriétés structurelles de la molécule d'éthylbenzène** sont impliquées dans l'apparition des effets ototoxiques ; les solvants aromatiques possédant un noyau benzénique et une chaîne latérale courte et non ramifiée (tels que l'éthylbenzène), semblent capables d'induire une ototoxicité (Anses, 2013). Les **mécanismes moléculaires à l'origine de l'ototoxicité induite par l'éthylbenzène** n'ont pas été déterminés. Les résultats d'une étude de van Kleef *et al.* (2008) suggèrent que l'ototoxicité induite par des faibles concentrations d'éthylbenzène pourrait être médiée par les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine. Sur la base d'études conduites avec du toluène, il a été suggéré que **l'augmentation des niveaux de calcium intracellulaires** pourrait être responsable de la perte des cellules ciliées externes exposées à des solvants tels que l'éthylbenzène (Cappaert *et al.*, 2001).

Une autre hypothèse est que les cellules ciliées externes seraient affectées par la **formation de radicaux libres** appelés communément les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Chen, 2007 ; Henderson, 2006). Cette atteinte chimique de la cochlée induite par l'éthylbenzène conduit à la destruction des cellules ciliées externes même après la fin de l'exposition, tandis que les cellules ciliées internes semblent être bien conservées. Les effets ototoxiques des substances chimiques peuvent se poursuivre après l'arrêt de l'exposition (Campo *et al.*, 2001 ; Loquet, 2000). Par ailleurs, il existe une signature histopathologique chez l'Homme et l'animal des effets cochléotoxiques induits par une exposition aux solvants aromatiques dont l'éthylbenzène : les lésions observées sur la cochlée se font toujours de la 3^{ème} vers la 1^{ère} rangée de cellules ciliées externes. Il n'existe pas en revanche de signature spécifique d'un solvant ototoxique en termes de fréquences atteintes, c'est le spectre du bruit ambiant qui va induire les pertes dans une gamme de fréquences spécifique (Venet *et al.*, 2015).

3.9.2 Effets sur le système nerveux central

Une étude chez l'Homme indique que l'éthylbenzène pouvait avoir des effets indésirables sur le système nerveux central (Yant *et al.*, 1930). Des études chez l'animal indiquent également que l'éthylbenzène pouvait avoir des effets indésirables sur le système nerveux central (Cragg *et al.*,

1989 ; Ethylbenzene Producers Association, 1986 ; Molnar *et al.*, 1986 ; Tegeris et Balster, 1994 ; Yant *et al.*, 1930).

Les études *in vivo* chez l'animal de la toxicité de l'éthylbenzène au niveau cellulaire indiquent que des **modifications des taux de dopamine et d'autres altérations biochimiques au niveau cérébral, ainsi que l'activité électrique dans le cerveau** pourraient être impliquées dans la toxicité de l'éthylbenzène sur le système nerveux central (Andersson *et al.*, 1981 ; Frantik *et al.*, 1994 ; Mutti *et al.*, 1988 ; Romanelli *et al.*, 1986).

Les études *in vitro* du mécanisme toxique de l'éthylbenzène ont mis l'accent sur les effets au niveau des membranes cellulaires, en particulier sur la membrane de l'astrocyte (cellule du système nerveux central) (Engelke *et al.*, 1993 ; Naskali *et al.*, 1993, 1994 ; Sikkema *et al.*, 1995 ; Vaalavirta et Tähti 1995a, 1995b). Une revue de Sikkema *et al.* (1995) suggère que **les modifications de la structure et de l'intégrité de la membrane cellulaire après répartition de l'éthylbenzène dans la bicouche lipidique** pourraient constituer un mécanisme de neurotoxicité. Ces modifications seraient en effet susceptibles d'affecter les propriétés fonctionnelles de la membrane : rôle de barrière ou dans la transduction d'énergie.

Les travaux de Vaalavirta et Tähti (1995a ; 1995b) ainsi que ceux de Naskali *et al.* (1993 ; 1994) se sont intéressés aux effets de l'éthylbenzène sur la membrane d'astrocytes de rats ; ces cellules sont utilisées en tant que modèles *in vitro* pour l'étude des effets des solvants sur le système nerveux central médiés par les membranes. Les astrocytes ont été cultivés à partir du cervelet de rats Sprague-Dawley nouveaux-nés. Ces cellules se sont avérées sensibles aux effets de l'éthylbenzène, entraînant une inhibition de l'activité des pompes Na⁺/K⁺-ATPase et Mg²⁺-ATPase (Vaalavirta et Tähti, 1995a, 1995b). Selon Naskali *et al.* (1994), cet effet est dépendant de la concentration. L'inhibition de ces pompes enzymatiques (protéines liées à la membrane) impliquées dans la régulation des échanges ioniques entre les milieux intra et extracellulaires est susceptible de perturber la capacité de la cellule à maintenir l'homéostasie.

Des études expérimentales menées sur des préparations contenant des terminaisons synaptiques de rats (similaires à celles utilisées dans l'étude de Engelke *et al.* (1993)) indiquent que la fluidité membranaire (mobilité des lipides constituant la membrane) est augmentée suite à une exposition à l'éthylbenzène. Les activités de l'ATPase et de l'acétylcholinestérase étaient par ailleurs diminuées, de la même manière qu'observé sur les astrocytes.

3.9.3 Effets rénaux

Les études chez le rat indiquent que des expositions subchronique et chronique à l'éthylbenzène par inhalation sont responsables d'atteintes rénales dont la gravité semble croître avec la durée d'exposition. Les effets rénaux liés à une exposition subchronique sont similaires à ceux observés après une exposition aiguë (augmentation du poids des reins, induction des enzymes rénales microsomales, et changements associés à l'accumulation de α_2 -microglobuline). Pour une exposition chronique par inhalation, une seule étude est disponible chez l'animal et les effets rénaux observés chez les rats mâles et femelles sont plus sévères (néphropathie progressive chronique, hyperplasie du tubule rénal ainsi que des adénomes et des carcinomes des tubules rénaux) (NTP, 1999).

Les mécanismes à l'origine de la toxicité rénale observée chez le rat en lien avec une exposition chronique à l'éthylbenzène n'ont pas été élucidés. Chez les rats mâles, l'accumulation d' $\alpha_2\mu$ -globuline dans les cellules épithéliales des tubules rénaux est associée à une nécrose tubulaire épithéliale, une prolifération régénérative et des tumeurs rénales. L' $\alpha_2\mu$ -globuline est une protéine sécrétée exclusivement chez le rat mâle. La toxicité rénale induite par ce mécanisme est donc spécifique au rat mâle et non transposable à l'Homme. En l'absence de données sur le mécanisme à l'origine des effets néphrotoxiques induits par l'éthylbenzène, il n'est donc pas pertinent de considérer les atteintes rénales observées chez le rat mâle pour évaluer les effets potentiels chez l'Homme. Le mécanisme impliqué dans l'aggravation de la néphropathie progressive chronique observée chez les rats femelles est inconnu mais ne met pas en jeu l' $\alpha_2\mu$ -globuline.

3.9.4 Cancérogénicité

Les informations concernant la cancérogénicité de l'éthylbenzène chez l'animal proviennent d'un essai biologique du NTP conduit chez des rongeurs (rats et souris) mâles et femelles exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de 0, 75, 250, ou 750 ppm (0, 326, 1090, ou 3260 mg.m⁻³) pendant 2 ans (NTP, 1999).

Les résultats de ces essais apportent des preuves claires d'une activité cancérogène chez les rats mâles, sur la base de l'observation d'une incidence accrue de tumeurs des tubules rénaux et des adénomes testiculaires ainsi que des éléments de preuves d'une activité cancérogène chez les rats femelles, sur la base de l'observation d'une incidence accrue des adénomes des tubules rénaux. Cette étude apporte également des éléments de preuves d'une activité cancérogène chez les souris mâles sur la base de l'observation d'une incidence accrue des tumeurs alvéolaires/bronchiolaires et des éléments de preuves d'une activité cancérogène chez les souris femelles, d'après l'observation d'une augmentation de l'incidence des tumeurs hépatocellulaires (NTP, 1999).

En revanche, les résultats des essais de cancérogénicité menés par le NTP sur le 1-phenylethanol (NTP, 1990), métabolite primaire de l'éthylbenzène, apportent des éléments de preuve d'une activité cancérogène chez les rats mâles, sur la base de l'observation d'une incidence accrue des tumeurs des tubules rénaux mais aucune preuve d'une activité cancérogène chez les rats femelles ou chez les souris des 2 sexes. Ces résultats suggèrent qu'une partie de l'activité cancérogène de l'éthylbenzène pourrait être attribuée au composé parent et/ou aux métabolites de la voie du 4-éthylphénol, plutôt que de la voie 1-phényléthanol.

Les mécanismes à l'origine de la formation des tumeurs rénales observées chez les rats sont inconnus. Les résultats des études de génotoxicité semblent écarter l'hypothèse d'un mécanisme génotoxique (voir le détail dans le chapitre 3.6). Chez les rats mâles et femelles exposés à 750 ppm d'éthylbenzène, les résultats des essais ont mis en évidence des **augmentations significatives de l'incidence des adénomes des tubules rénaux et des adénomes ou carcinomes hépatocellulaires (combinés)** comparativement aux animaux témoins. L'analyse histopathologique des reins (NTP, 1999) indique une aggravation significative de la néphropathie progressive chronique et une augmentation de l'hyperplasie tubulaire rénale (lésion pré-

néoplasique) chez les rats mâles exposés à 750 ppm ; chez les rats femelles, l'aggravation de la néphropathie progressive chronique est significative dès 75 ppm et une augmentation non significative de l'hyperplasie tubulaire rénale était observée à 750 ppm.

Dans une réévaluation de l'histopathologie rénale des rats de l'étude du NTP, Hard (2002) a confirmé les conclusions avancées par le NTP (1999), suggérant que l'augmentation de l'incidence des tumeurs rénales chez les rats dans le groupe exposé à 750 ppm (concentration la plus élevée) était liée à une **aggravation de la néphropathie progressive chronique** induite par une substance chimique, avec une contribution mineure de la néphropathie induite par l' $\alpha_2\mu$ -globuline chez les rats mâles. Cependant, dans une analyse de l'association entre la néphropathie progressive chronique et les tumeurs du tubule rénal chez les rats mâles F344, Seely *et al.* (2002) ont conclu que **l'association des 2 pathologies était marginale** ; les résultats de cette analyse suggèrent que le nombre de tumeurs des tubules rénaux secondaires à une néphropathie progressive chronique serait *a priori* faible.

3.10 Extrapolations de l'animal à l'Homme

Des différences inter-espèces ont été mises en évidence concernant le métabolisme de l'éthylbenzène.

Chez **l'Homme** exposé par inhalation, les métabolites majeurs sont l'acide mandélique (environ 70% de la dose absorbée) et l'acide phénylglyoxylique (environ 25% de la dose absorbée), qui sont excrétés dans l'urine. Des preuves montrent que l'étape initiale de cette voie métabolique est l'oxydation de la chaîne latérale de l'éthylbenzène en 1-phényléthanol. (Bardodej et Bardodejova, 1970 ; Engstrom *et al.*, 1984). Chez les **rats** exposés par inhalation (ou par voie orale) à l'éthylbenzène, les métabolites majeurs identifiés sont les acides hippuriques et benzoïques (environ 38%), le 1-phényléthanol (environ 25%) et l'acide mandélique (environ 15-23%), l'acide phénylglyoxylique représentant seulement 10 % des métabolites (Climie *et al.*, 1983; Engstrom *et al.*, 1984, 1985). Chez les **lapins**, le métabolite majoritaire est l'acide hippurique, qui est probablement formé par décarboxylation oxydative de l'acide phénylglyoxylique. (El Masry *et al.*, 1958). Il a été observé que les lapins excrétaient des niveaux plus élevés de métabolites glucurono-conjugués comparativement aux Hommes et aux rats (El Masry *et al.*, 1956 ; Smith *et al.*, 1954a et b).

Aucun modèle animal du métabolisme de l'éthylbenzène n'est donc complètement comparable au métabolisme humain. Toutefois, parmi les modèles expérimentaux étudiés, les rats semblent être un modèle plus approprié que les lapins (ils excrètent des niveaux plus élevés de métabolites glucurono-conjugués comparativement aux Hommes et aux rats).

Les études conduites chez l'animal *in vivo* ou *in vitro* concernant les mécanismes pharmacocinétiques et les mécanismes de toxicité de l'éthylbenzène se sont intéressées principalement aux processus cellulaires. Ces derniers semblent indiquer que les mécanismes chez l'Homme et les animaux seraient similaires ; bien que certaines différences inter-espèces existent, les effets indésirables observés après une exposition à l'éthylbenzène chez l'Homme et les animaux semblent être comparables (respiratoires, hépatiques, rénaux et neurologiques). Les

rats sont peut-être plus sensibles que les souris ou les lapins (Cragg *et al.*, 1989 ; NTP, 1992). Ainsi, le rat semble être le modèle animal le plus approprié pour étudier le mécanisme de toxicité de l'éthylbenzène en ce qui concerne l'évaluation des effets sur la santé humaine.

Plusieurs modèles pharmacocinétiques/pharmacodynamiques physiologiques ont été développés afin de simuler la cinétique de l'éthylbenzène pour une exposition par inhalation chez l'Homme et chez l'animal (Dennison *et al.*, 2003 ; Haddad *et al.*, 1999, 2000, 2001; Jang *et al.*, 2001 ; Marchand *et al.*, 2015 ; Nong *et al.*, 2007 ; Tardif *et al.*, 1997).

La cinétique sanguine de l'éthylbenzène inhalé a été modélisée avec succès en prenant les hypothèses 1) d'un transfert de flux limité de l'éthylbenzène vers les tissus et 2) d'une capacité limitée d'élimination par le métabolisme (Dennison *et al.*, 2003, 2004 ; Tardif *et al.*, 1997). Ces modèles ont été transposés avec succès du rat à l'Homme en appliquant des valeurs de paramètres physiologiques et des coefficients de partage (sang/air) propres à chaque espèce ainsi qu'en réalisant une mise à l'échelle allométrique par le poids corporel des flux (débit cardiaque, taux de ventilation alvéolaire, *etc.*) et des paramètres du métabolisme (K_m , V_{max}) (Marchand *et al.*, 2015 ; Tardif *et al.*, 1997). Ces études suggèrent une similitude générale des cinétiques de distribution et d'élimination de l'éthylbenzène chez les rats et les humains. La robustesse de ces modèles de prédiction de la cinétique de l'éthylbenzène pour d'autres espèces n'a pas été rapportée. Cependant, la cinétique sanguine d'élimination de l'éthylbenzène inhalé chez la souris montre des similitudes avec celle du rat (ex : la non-linéarité de la clairance avec la concentration d'exposition, des demi-vies d'élimination similaires (Charest - Tardif *et al.*, 2006 ; Tardif *et al.*, 1997).

4 Recueil de valeurs guides et valeurs toxicologiques de référence par inhalation

4.1 VTR pour des expositions aiguës

- VTR de l'ATSDR

En 2010, l'ATSDR a proposé comme valeur limite un MRL (Minimal Risk Level) pour une exposition aiguë (14 jours maximum) de **5 ppm** (22 mg.m⁻³). L'effet critique considéré est un effet ototoxique, **le déplacement du seuil auditif**.

Les valeurs de référence établies par l'ATSDR visent à protéger la population générale dans des conditions normales d'exposition (pas d'intervention d'urgence).

L'ATSDR considère que les données chez l'animal pour des expositions aiguës à l'éthylbenzène identifient la fonction auditive comme une cible très sensible. Une perte significative des cellules ciliées externes de l'organe de Corti a été observée chez le rat pour des expositions aiguës par inhalation dès 400 ppm, avec persistance des effets sur le système auditif plusieurs semaines après l'exposition, suggérant leur caractère irréversible. Des altérations significatives des seuils auditifs ont également été rapportées, en lien avec la perte des cellules ciliées externes (Cappaert *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2002). L'effet critique retenu par l'ATSDR est ainsi l'effet ototoxique qui apparaît de manière significative chez le rat à une concentration de 400 ppm (Cappaert *et al.*, 2000).

L'ATSDR a retenu l'étude de Cappaert *et al.* (2000) pour construire sa VTR. Dans cette étude, des rats étaient exposés par inhalation (corps entier) à des concentrations analytiques de 0, 300, 400 et 550 ppm d'éthylbenzène, 8 h par jour, pendant 5 jours consécutifs.

La fonction auditive des animaux était évaluée 3 à 6 semaines après l'exposition par :

- la réalisation d'une électrocochléographie dans la gamme des fréquences de 1 à 24 kHz : enregistrement de l'activité électrique du nerf auditif par mesure des potentiels évoqués auditifs en réponse à des stimuli sonores ;
- la mesure des émissions oto-acoustiques (EOA) par produits de distorsion dans la gamme des fréquences de 4 à 22,6 kHz : identification des réponses de la cochlée à une stimulation acoustique ; la genèse de ces EOA reposant sur la normalité du fonctionnement des cellules ciliées externes de l'organe de Corti ;
- l'analyse histologique de la cochlée des animaux en microscopie optique : quantification des pertes de cellules ciliées externes.

Dès 400 ppm, les auteurs ont observé une augmentation significative des seuils auditifs à 12 et 16 kHz, ainsi qu'une perte de cellules ciliées de 25% dans la zone cochléaire exposée à 11 et 21 kHz.

L'élaboration du MRL par l'ATSDR est basée sur la construction d'une BMC. Cette BMC a été élaborée considérant les réponses électriques du nerf auditif (potentiels évoqués auditifs) soumis à des stimuli sonores de différentes fréquences, à partir de données transmises à l'ATSDR par le Dr Gagnaire. Les réponses les plus marquées étaient observées pour les fréquences de 8, 12 et 16 kHz ; les données correspondantes ont donc été retenues pour la construction de la BMC. Différents modèles continus ont été utilisés pour tester l'ajustement des données modélisées aux données expérimentales en utilisant comme métrique de dose la concentration artérielle moyenne d'éthylbenzène (MCA) ; le niveau de réponse jugé adverse (BMR) a été fixé à 1 écart type de la moyenne observée dans le groupe témoin. Un modèle PBPK a par ailleurs été utilisé pour estimer les concentrations sanguines d'éthylbenzène chez les animaux de laboratoire pour les différentes concentrations d'exposition testées (Tardif *et al.* 1997).

Le MRL pour une exposition aiguë par inhalation a été dérivé à partir de la plus faible BMC_{1SDL95} (limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la BMC associée à un BMR de 1SD) de 81,10 µmol/L, correspondant à une modification des potentiels évoqués auditifs en réponse à des stimuli sonores de 16 kHz. Après ajustement dosimétrique pour passer de l'animal à l'Homme à l'aide d'un modèle PBPK humain (Marchand *et al.*, 2015), la dose critique obtenue est une BMCL_{HEC} (BMCL équivalent humain) de 154,26 ppm. **Un facteur d'incertitude (UF) de 30** a été appliqué à cette concentration :

- 3 pour tenir compte de la composante toxicodynamique de la variabilité inter-espèces (UF_{A-TD}) ;
- 10 pour la variabilité interindividuelle (UF_H).

Tableau 5 : VTR aiguë par inhalation établie par l'ATSDR (2010)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Ototoxicité Déplacement du seuil auditif <i>Cappaert et al. (2000)</i>	inhalation – corps entier 0, 300, 400, ou 550 ppm 8h/j, pendant 5 j	Rats (Wag/Rij)	BMC _{1SDL95} = 81,10 µmol/L <u>Ajustement allométrique</u> BMCL _{HEC} = 154,26 ppm (669,49 mg.m ⁻³)	30 UF _{A-TD} 3 UF _H 10	MRL = 5 ppm (22 mg.m ⁻³)

- **Valeurs guides de gestion pour des expositions accidentelles**

Des valeurs guides de gestion sont disponibles pour des expositions accidentelles à l'éthylbenzène, il s'agit des AEGL (Acute Exposure Guideline Levels), élaborées sous l'égide de l'US EPA et décrites ci-après. A la différence des VG ou des VTR, les AEGL 2 et 3 ne sont pas construites sur la base d'une absence d'effet, mais pour des effets adverses. La description de ces valeurs n'est pas usuelle dans la méthodologie de construction des VTR mais le choix a été fait ici de les décrire.

- **AEGL (Acute Exposure Guideline Levels)**

Les AEGL sont développées aux Etats-Unis par un comité international d'experts, le « National Advisory Committee for the Development of Acute Exposure Guideline Levels for Hazardous Substances » (AEGL Committee), géré par l'US EPA.

Ces valeurs guides sont destinées à protéger la population générale (incluant les individus sensibles) des effets néfastes liés à une exposition accidentelle par inhalation à des substances présentes dans l'air. L'élaboration de ces valeurs guides a pour objectif d'aider les autorités nationales et locales, ainsi que des entreprises privées, face aux situations d'urgence impliquant des déversements ou autres expositions catastrophiques.

Des seuils sont ainsi déterminés pour chaque substance afin de prévenir l'apparition de 3 types d'effets dont le niveau de gravité est différent, pour 5 durées d'exposition (10 min, 30 min, 1 h, 4 h et 8 h) : AEGL-1, AEGL-2 et AEGL-3.

Les valeurs d'AEGL pour l'éthylbenzène ont été proposées en 2009 et sont décrites ci-après (AEGL, 2009).

- **AEGL-1** : *concentration d'une substance chimique dans l'air (exprimée en ppm ou mg/m³) au-dessus de laquelle la population générale, incluant des individus sensibles, pourrait présenter des signes d'inconfort notable, d'irritation ou tout autre signe non-sensoriel et asymptomatique. Ces effets sont transitoires, non-invalidants et réversibles après cessation de l'exposition.*

L'AEGL-1 pour l'éthylbenzène est construite en prenant comme effet critique **l'irritation des voies respiratoires** ainsi que des **effets bénins sur le système nerveux central (SNC)**, d'après une étude source conduite chez l'Homme (Bardodej et Bardodejova, 1961).

Les auteurs de cette étude ont exposé des volontaires humains à de l'éthylbenzène par inhalation dans des chambres d'exposition pendant 8 heures. Une interruption de l'exposition des sujets (sortie de la chambre) avait lieu pendant 1 heure, pour le déjeuner. L'atmosphère de la chambre était surveillée par spectrophotométrie.

Aucun effet n'a été rapporté par les 9 sujets exposés pendant 8 heures à une concentration d'éthylbenzène de 100 ppm. En revanche, pour une exposition à 180 ppm (11 sujets pendant 8h), les sujets ont décrit des irritations des yeux et des voies respiratoires, des signes non spécifiques de dépression du SNC (maux de tête, fatigue, somnolence) et une narcose transitoire. L'AEGL-Committee a donc retenu une NOAEC de 100 ppm pour la construction de l'AEGL-1.

Un facteur d'incertitude (UF) de 3 a été appliqué à cette concentration pour tenir compte de la variabilité interindividuelle (UF_H).

Cette étude étant en langue tchèque, il n'a pas été possible de l'analyser directement, mais l'auteur nous a indiqué que la majorité de l'article portait sur la surveillance biologique de l'exposition des travailleurs, précisant que la partie concernant les effets n'est pas analysée dans les détails. Ces informations corroborent le commentaire de l'AEGL-Committee concernant cette étude, expliquant que peu de détails sur le protocole expérimental sont disponibles et que la

sévérité des effets ainsi que le nombre d'individus affectés par les symptômes décrits n'étaient pas précisés.

Tableau 6 : AEGL-1 éthylbenzène (effets transitoires, non-invalidants et réversibles après cessation de l'exposition)

Organisme (année)	Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	Valeur accidentelle	
AEGL Committee (2009)	Effets sur le SNC : maux de tête, somnolence, narcose transitoire Irritation des voies respiratoires et des yeux <i>Bardodej et Bardodejova (1961)</i>	inhalation (chambre d'exposition) 100 et 180 ppm pendant 8h	Homme	NOAEC = 100 ppm	3 UF _H 3	AEGL-1 =	
						10 min	33 ppm (144 mg.m ⁻³)
						30 min	
						1h	
						4h	
8h							

- **AEGL-2** : concentration d'une substance chimique dans l'air (exprimée en ppm ou mg/m³) au-dessus de laquelle des effets irréversibles, des effets nocifs sévères ou des effets adverses à long terme pourraient être observés au sein de la population générale, incluant des individus sensibles.

L'AEGL-2 pour l'éthylbenzène est construite en prenant comme effet critique les **effets narcotiques** chez le rat, d'après l'étude source de Molnár *et al.* (1986).

Au cours de cette étude, les auteurs ont exposé corps entier 8 rats à de la vapeur d'éthylbenzène pendant 4 heures. Les animaux ont été exposés à 6 niveaux de concentrations analytiques (100 à 4000 ppm), jusqu'à atteindre les niveaux induisant une anesthésie.

Afin de suivre la motilité des animaux pendant toute la durée de l'expérience, 4 transducteurs électromécaniques intégrés dans des tubes en métal ont été fixés en position perpendiculaire à l'intérieur de la chambre d'exposition (cylindre). Les rats en mouvement déclenchaient les transducteurs en touchant les tubes et le nombre de contacts a été enregistré en continu par un compteur électrique à l'extérieur de la chambre. Selon les auteurs, à l'issue des 4 heures d'exposition, le nombre total de contacts rend compte de l'activité motrice des rats.

Sur la base de cette évaluation arbitraire de l'activation centrale (selon les dires mêmes des auteurs), les auteurs ont jugé que l'exposition à l'éthylbenzène provoquait une augmentation de la motilité du groupe dépendante de la concentration. Ils ont observé un effet biphasique concernant la réponse motrice avec une activation modérée aux faibles doses (400 à 1500 ppm) et une dépression du SNC à des doses plus élevées (> 1500 ppm). Des effets narcotiques ont été observés pour une concentration minimale de 2180 ppm ; jusqu'à 1500 ppm, aucun effet narcotique n'a été relevé. L'AEGL-Committee a donc retenu une NOAEC de 1500 ppm pour la construction de l'AEGL-2.

Un modèle pharmacocinétique physiologique (PBPK) a été utilisé afin de déterminer la concentration interne chez le rat correspondant à une exposition à la NOAEC source retenue (concentration interne cible) pendant 4 heures. Dans un second temps, un modèle PBPK humain a été utilisé afin de définir, pour les 5 durées d'exposition investiguées (10 min, 30 min, 1 h, 4 h et 8 h), quelles concentrations externes d'exposition à l'éthylbenzène conduisent chez l'Homme à une concentration interne cible.

Un facteur d'incertitude (UF) de 3 a été appliqué à cette concentration :

- 1 pour prendre en compte la variabilité inter-espèces (UF_A) : l'utilisation d'un modèle PBPK réduit la composante toxicocinétique de l'UF à 1 et la composante toxicodynamique est également réduite à 1 parce que les effets sur le SNC se manifestent chez l'Homme et chez le rat ;
- 3 pour tenir compte de la variabilité interindividuelle (UF_H).

Il est à noter que plusieurs limites ont été identifiées par les experts de l'Anses concernant cette étude : manque de détails quant au protocole expérimental (dimensions de la chambre d'exposition, concentrations d'exposition, présence d'un groupe contrôle, etc.) et notamment quant à la mesure de l'activité motrice (jugée arbitraire par les auteurs eux-mêmes) dont le principe est discutable. Par ailleurs, les résultats n'ont fait l'objet d'aucune analyse statistique et leur présentation les rend difficilement interprétables. Le niveau de qualité de cette étude est jugé très faible.

Tableau 7 : AEGL-2 éthylbenzène (effets irréversibles, nocifs sévères ou adverses à long terme)

Organisme (année)	Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	Valeur accidentelle	
AEGL Committee (2009)	Effets sur le SNC : narcose (troubles de l'activité motrice) <i>Molnár et al. (1986)</i>	inhalation – corps entier 400 à 2180 ppm pendant 4h	Rats (mâles CFY)	NOAEC = 1500 ppm NOAEC _{ADJ} = utilisation d'un modèle PBPK rat puis d'un modèle PBPK humain afin de définir, pour les 5 durées d'exposition investiguées (10 min, 30 min, 1 h, 4 h et 8 h), les concentrations externes d'exposition à l'éthylbenzène	3 UF _A 1 UF _H 3	AEGL-2 =	
						10 min	2900 ppm (13000 mg.m ⁻³)
						30 min	1600 ppm ³ (7000 mg.m ⁻³)
						1h	1100 ppm (4800 mg.m ⁻³)
						4h	660 ppm (2900 mg.m ⁻³)
						8h	580 ppm (2500 mg.m ⁻³)

➤ **AEGL-3** : concentration d'une substance chimique dans l'air (exprimée en ppm ou mg/m³) au-dessus de laquelle des effets potentiellement mortels ou des décès pourraient survenir au sein de la population générale, incluant des individus sensibles.

L'AEGL-3 est construite en se basant sur l'**absence d'effets létaux** chez le rat, d'après une étude source conduite par Andersson *et al.* (1981).

Cette étude a été sélectionnée par l'AEGL-Committee pour construire l'AEGL-3 car il s'agit de l'étude pour laquelle la dose non létale observée chez la souris à la suite d'une exposition unique est la plus élevée (des décès chez la souris se sont produits à des concentrations d'exposition inférieures, mais suite à des expositions multiples). Les auteurs ont exposés des souris par inhalation (corps entier) à des concentrations analytiques de 2000 ppm éthylbenzène, 6 heures/jour, pendant 3 jours consécutifs ; aucun décès n'a été rapporté parmi les souris exposées. L'AEGL-Committee a donc retenu une NOAEC de 2000 ppm pour la construction de l'AEGL-3.

Un modèle PBPK a également été utilisé afin de déterminer la concentration interne chez le rat correspondant à une exposition à 2000 ppm pendant 6 heures (concentration interne cible). Un modèle PBPK humain a ensuite été utilisé afin de définir, pour les 5 durées d'exposition investiguées (10 min, 30 min, 1 h, 4 h et 8 h), les concentrations externes d'exposition à l'éthylbenzène conduisant chez l'Homme à la concentration interne cible.

Un facteur d'incertitude (UF) de 3 a été appliqué à cette concentration :

- 1 pour tenir compte de la variabilité inter-espèces (UF_A) : l'utilisation d'un modèle PBPK réduit la composante toxicocinétique de l'UF à 1 et la composante toxicodynamique est également réduite à 1 parce que les effets sur le SNC se manifestent chez l'Homme et chez le rat ;
- 3 pour tenir compte de la variabilité interindividuelle (UF_H).

Tableau 8 : AEGL-3 éthylbenzène (effets potentiellement mortels ou mortels)

Organisme (année)	Effet critique Étude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	Valeur accidentelle	
AEGL Committee (2009)	Décès <i>Andersson et al. (1981)</i>	inhalation – corps entier 2000 ppm pendant 3 j	Rats (mâles Sprague-Dawley)	NOAEC = 2000 ppm NOAEC _{ADJ} = utilisation d'un modèle PBPK rat puis d'un modèle PBPK humain afin de définir, pour les 5 durées d'exposition investiguées (10 min, 30 min, 1 h, 4 h et 8 h), les concentrations externes d'exposition à l'éthylbenzène	3 UF_A 1 UF_H 3	AEGL-3 =	
						10 min	4700 ppm (20400 mg.m ⁻³)
						30 min	2600 ppm (11000 mg.m ⁻³)
						1h	1800 ppm (7800 mg.m ⁻³)
						4h	1000 ppm (4400 mg.m ⁻³)
						8h	910 ppm (4000 mg.m ⁻³)

La construction des valeurs de l'AEGL-2 et de l'AEGL-3 a nécessité l'utilisation d'un modèle PBPK afin d'extrapoler à l'Homme les observations faites chez le rat ou la souris. Il est à noter que l'AEGL-Committee précise que la valeur de l'AEGL-2 n'est peut-être pas protectrice vis-à-vis des effets ototoxiques qui pourraient survenir après des expositions répétées à l'éthylbenzène, mais qu'aucune donnée ne permettait d'évaluer l'ototoxicité après une exposition unique à l'éthylbenzène (AEGL, 2009).

4.2 VTR pour des expositions subchroniques (de 15 jours à 1 an)

- VTR de l'ATSDR

En 2010, l'ATSDR a proposé un MRL (Minimal Risk Level) pour une exposition subchronique (15 à 364 jours) de **2 ppm** ($8,7 \text{ mg.m}^{-3}$). L'effet critique considéré est un effet ototoxique, **le déplacement du seuil auditif et la perte de cellules ciliées externes**.

D'après les données expérimentales disponibles, l'ATSDR considère que l'ototoxicité est l'effet le plus sensible pour une exposition subchronique par inhalation à l'éthylbenzène ; elle a donc choisi de retenir le **déplacement du seuil auditif ainsi que la perte de cellules ciliées externes** observée dans l'étude de Gagnaire *et al.* (2007), comme effet critique afin de construire une VTR subchronique.

Dans l'étude de Gagnaire *et al.* (2007), des rats mâles (14 rats par groupe d'exposition) ont été exposés corps entier par inhalation à des concentrations analytiques de 0, 200, 400, 600 et 800 ppm d'éthylbenzène, 6 heures par jour, 6 jours par semaine, pendant 13 semaines. L'effet ototoxique a été évalué ; d'une part, *via* la réalisation d'une électrocochléographie dans la gamme des fréquences de 1 à 24 kHz et la mesure des émissions oto-acoustiques (EOA) par produits de distorsion dans la gamme des fréquences de 4 à 22,6 kHz après 4, 8 ou 13 semaines d'exposition ainsi que 8 semaines après arrêt de l'exposition ; d'autre part, *via* une analyse histopathologique de la cochlée des animaux en microscopie optique 8 semaines après arrêt de l'exposition. **Les seuils auditifs à 2, 4, 8 et 16 kHz étaient significativement plus élevés (perte d'audition) chez les animaux exposés à 400, 600 et 800 ppm d'éthylbenzène comparativement aux animaux du groupe témoin**. Cet effet est marqué dès 4 semaines d'exposition, ne change pas au cours de la période d'exposition et persiste 8 semaines après arrêt de l'exposition. **Aucun déplacement du seuil auditif n'était observé chez les rats exposés à 200 ppm ; néanmoins, l'évaluation morphologique de l'organe de Corti a révélé des pertes significatives de cellules ciliées externes (allant jusqu'à 30% dans la région des fréquences moyennes) au niveau de la 3^{ème} rangée de cellules ciliées externes chez 4 rats sur les 8 exposés à cette concentration**. La perte de cellules ciliées externes au niveau de la 3^{ème} rangée de cellules ciliées externes est dépendante de la concentration d'éthylbenzène ; cette perte était quasiment complète pour des expositions à 600 et 800 ppm. Aucune perte significative de cellules ciliées n'a été observée chez les animaux du groupe contrôle.

L'élaboration de la BMC a été effectuée à partir de données transmises à l'ATSDR par le Dr Gagnaire. Différents modèles continus ont été utilisés pour tester l'ajustement des données modélisées aux données expérimentales (les seuils auditifs à 4, 8 et 16 kHz mesurés chez les rats exposés pendant 4 ou 13 semaines et la perte de cellules ciliées externes mesurée à la fin de la période de récupération) en utilisant comme métrique de dose la concentration artérielle moyenne d'éthylbenzène (MCA) ; le niveau de réponse jugé adverse (BMR) a été fixé à 1 écart type de la moyenne observée dans le groupe témoin. Un modèle PBPK a par ailleurs été utilisé pour estimer les concentrations sanguines d'éthylbenzène chez les animaux de laboratoire pour les différentes concentrations d'exposition testées (Tardif *et al.* 1997).

La plupart des modèles disponibles ne permettaient pas d'ajuster de manière adéquate les données modélisées aux données expérimentales pour les seuils auditifs. Cependant, en écartant les 2 groupes exposés aux doses les plus élevées, un ajustement plus fidèle de plusieurs ensemble de données a été possible en utilisant différents modèles (ex : les seuils auditifs à 4 kHz après 4 semaines d'exposition avec le modèle Powel, les seuils auditifs à 8 kHz après 4 semaines d'exposition avec le modèle polynomial d'ordre deux, *etc.*). Les valeurs critiques de concentrations artérielles moyennes d'éthylbenzène (BMCL_{MCA}) ont ainsi été estimées pour chaque couple ensemble de données/modèle. Concernant la perte de cellules ciliées externes, aucun des modèles testés ne permettait d'ajuster correctement les données modélisées sur les données expérimentales.

A partir des différentes BMCL_{MCA} estimées, un modèle pharmacocinétique humain (Marchand *et al.*, 2015) a été utilisé afin de modéliser les valeurs de concentrations équivalentes humaines (BMCL_{HEC}) correspondantes. Ces valeurs variaient de 63,64 à 87,13 ppm ; l'ATSDR a choisi de conserver la valeur la plus basse, 63,64 ppm en tant que dose critique source.

Le MRL pour une exposition subchronique par inhalation a ainsi été dérivé à partir de la plus faible BMCL_{HEC} de 63,64 ppm, correspondant à une modification des seuils auditifs en réponse à des stimuli sonores de 8 kHz après 4 semaines d'exposition. **Un facteur d'incertitude de 30** a été appliqué à cette concentration :

- 3 pour tenir compte de la composante toxicodynamique de la variabilité inter-espèces (UF_{A-TD}) ;
- 10 pour la variabilité interindividuelle (UF_H).

Tableau 9 : VTR subchronique par inhalation établie par l'ATSDR (2010)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Ototoxicité Déplacement du seuil auditif et perte de cellules ciliées externes <i>Gagnaire et al., 2007</i>	inhalation – corps entier 0, 200, 400, 600, ou 800 ppm 6h/j, 6j/sem, pendant 13 sem	Rats (Sprague-Dawley)	BMCL _{MCA} = 19,94 µmol/L <u>Ajustement allométrique</u> BMCL _{HEC} = 63,64 ppm (276,2 mg.m ⁻³)	30 UF _{A-TD} 3 UF _H 10	MRL = 2 ppm (8,7 mg.m ⁻³)

4.3 VTR pour des expositions chroniques (vie entière)

- **VTR du RIVM**

L'éthylbenzène a fait l'objet d'une première évaluation par le RIVM en 1991. Le RIVM avait alors construit comme valeur limite une TCA (tolérable concentration in air) de 77 µg.m⁻³ pour des expositions chroniques par inhalation à l'éthylbenzène à partir d'une NOAEC de 430 mg.m⁻³, sélectionnée sur la base des résultats de plusieurs études par inhalation pour une exposition à court terme chez le rat. La NOAEC avait été ajustée par rapport aux conditions d'exposition expérimentale (calcul d'une exposition discontinue de 6h/j, 5j/sem vers une exposition continue 24h/j, 7j/sem) et divisée par un facteur d'incertitude de 1000 (10 pour l'extrapolation de l'animal à

l'Homme, 10 pour la variabilité interindividuelle (sensibilité de certains sous-groupes de population) et 10 pour l'utilisation d'une NOAEC court-terme à la place d'une NOAEC chronique).

En 2001, le RIVM a procédé à une réévaluation de la valeur chronique par inhalation construite en 1991 ; de nouvelles données toxicologiques étaient en effet disponibles pour des expositions par inhalation à l'éthylbenzène, notamment l'étude de cancérogénicité conduite par le NTP chez les rats et les souris (NTP, 1999).

Le RIVM a choisi l'effet sur le foie comme effet critique et a retenu une NOAEC de 430 mg.m⁻³ (100 ppm) afin de dériver sa valeur limite, d'après l'étude source du NTP (1992) (expositions subchroniques par inhalation à l'éthylbenzène). Dans cette étude, des rats et des souris mâles et femelles ont été exposés corps entier par inhalation à des concentrations analytiques d'éthylbenzène de 0, 100, 250, 500, 750 et 1000 ppm, 6 h/j, 5 j/sem pendant 13 semaines (90 jours) ; **des augmentations statistiquement significatives du poids absolu du foie ont été rapportées chez les rats exposés dès 250 ppm** et chez des souris dès 750 ppm.

Selon le RIVM, la NOAEC pour une exposition chronique, observée d'après l'étude de cancérogénicité du NTP (1999) (1075 mg.m⁻³ / 250 ppm), est plus élevée que la NOAEC observée pour une exposition subchronique ; l'Institut a donc préféré dériver une valeur limite chronique à partir de la NOAEC subchronique. La NOAEC de 430 mg.m⁻³ (100 ppm) a été ajustée par rapport à la durée d'exposition des rats dans les essais : calcul à partir d'une exposition discontinue de 6 h/j, 5 j/sem vers une exposition continue de 24 h/j, 7 j/sem, soit une NOAEC ajustée de 77 mg.m⁻³ (17,7 ppm). Cette valeur a ensuite été divisée par un **facteur d'incertitude de 100** :

- 10 pour tenir compte de la variabilité inter-espèces (UF_A) ;
- 10 pour la variabilité interindividuelle (UF_H).

Tableau 10 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par le RIVM (2001)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Atteinte hépatique Augmentation du poids absolu du foie <i>NTP (1992)</i>	inhalation – corps entier 0, 100, 250, 500, 750 et 1000 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 13 sem	Rats et souris	NOAEC = 430 mg.m ⁻³ (100 ppm) Ajustement temporel NOAEC _{ADJ} = 77 mg.m ⁻³ (17,7 ppm)	100 UF _A 10 UF _H 10	TCA = 770 µg.m⁻³ (0,177 ppm)

- **VTR de l'ATSDR**

En 2010, l'ATSDR a proposé un MRL (Minimal Risk Level) pour une exposition chronique (365 jours ou plus) de **0,06 ppm** (0,261 mg.m⁻³). L'effet critique considéré est un **effet rénal, l'augmentation de la sévérité des néphropathies progressives chroniques chez les rats femelles.**

Selon l'ATSDR, les données disponibles identifient le rein comme une cible sensible suivant une exposition chronique par inhalation à l'éthylbenzène ; elle a donc choisi de retenir l'effet rénal observé chez les rats femelles dans l'étude source du NTP (1999) afin de dériver son MRL.

Dans l'étude du NTP (1999), des rats F344 mâles et femelles (50 animaux par sexe par groupe de dose) ont été exposés par inhalation corps entier à des concentrations analytiques de 0, 75, 250, ou 750 ppm d'éthylbenzène 6 h/j, 5 j/sem, pendant 104 semaines. Les animaux ont été observés deux fois par jour et les résultats cliniques enregistrés mensuellement. Les poids corporels ont été relevés tout au long de l'étude et une autopsie complète ainsi qu'un examen microscopique des principaux organes et tissus ont été effectués sur tous les rats.

La survie des rats mâles dans le groupe de 750 ppm était significativement inférieure à celle des rats témoins. Aucun des résultats cliniques n'a été attribué à l'exposition à l'éthylbenzène. L'incidence de la néphropathie progressive chronique (47/50, 43/50, 47/50, 48/50 chez les rats mâles et 38/50, 42/50, 43/50, 46/49 chez les rats femelles) n'était pas été significativement différente entre les groupes. **Des augmentations significatives de la sévérité des néphropathies progressives chroniques ont néanmoins été observées chez les femelles exposées à des concentrations d'éthylbenzène \geq à 75 ppm** et chez les mâles à 750 ppm ; les scores de gravité de la néphropathie progressive chronique dans les groupes exposés à 0, 75, 250, et 750 ppm étaient respectivement de 2.3, 2.4, 2.3, et 3.5 chez les rats mâles, et de 1,3 ; 1,6 ; 1,7 et 2,3 chez les rats femelles.

L'ATSDR a utilisé une approche NOAEC/LOAEC pour la détermination du point de départ. Un modèle PBPK a été développé pour simuler deux unités de dose internes pour les effets rénaux: la concentration artérielle moyennée d'éthylbenzène (MCA) et le taux moyen de métabolisme de l'éthylbenzène exprimé par kg de masse corporelle (MRAMKB). Les connaissances actuelles sur les mécanismes de toxicité de l'éthylbenzène ne permettent pas de déterminer la contribution relative du composé parent ou de ses métabolites dans les effets toxiques rénaux ; les deux unités de dose considérées ont donc été explorées.

A partir des deux unités de dose internes (MCA et MRAMKB) pour chaque niveau d'exposition, les concentrations équivalentes humaines ($LOAEC_{(MCA)HEC}$ et $LOAEC_{(MRAMKB)HEC}$) correspondant respectivement à la $LOAEC_{MCA}$ et la $LOAEC_{MRAMKB}$ chez les rats femelles, ont été estimées en utilisant un modèle PBPK humain (Marchand *et al.*, 2015). Les HEC étaient 17,45 ppm pour l'unité de dose MCA et 52,68 ppm pour l'unité de dose MRAMKB. L'ATSDR a choisi la valeur la plus basse de HEC (17,45 ppm) comme point de départ de la construction du MRL. La $LOAEC_{(MCA)HEC}$ de 17,45 ppm a été divisée par un **facteur d'incertitude de 300** :

- 10 pour l'utilisation d'une LOAEC (UF_L) ;
- 3 pour tenir compte de la composante toxicodynamique de la variabilité inter-espèces (UF_{A-TD_i}) ;
- 10 pour la variabilité interindividuelle (UF_H).

Tableau 11 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par l'ATSDR (2010)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Atteinte rénale Augmentation de la gravité des néphropathies progressives chroniques chez les rats femelles <i>NTP (1999)</i>	inhalation – corps entier 0, 75, 250 ou 750 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 104 sem	Rats (Sprague- Dawley)	LOAEC _{MCA} = 326 mg.m ⁻³ (75 ppm) <u>Ajustement allométrique</u> <u>(PBPK)</u> LOAEC _{(MCA)HEC} = 75,7 mg.m ⁻³ (17,4 ppm)	300 UF _{A-TD} 3 UF _H 10 UF _L 10	MRL = 0,06 ppm (0,26 mg.m ⁻³)

- **VTR US EPA**

L'US EPA a proposé comme valeur limite une RfC (Reference concentration) de **1 mg.m⁻³** pour des expositions chroniques par inhalation à l'éthylbenzène. Cette valeur s'appuie sur 2 études de développement publiées en 1981 avec comme effet critique **la toxicité sur le développement** (Andrew *et al.*, 1981 ; Hardin *et al.*, 1981).

Des rats Wistar (n = 78 à 107 par niveau de concentration) et des lapins New Zealand (n = 29 à 30 par niveau de concentration) ont été exposés corps entier par inhalation à des concentrations nominales de 0, 100 (434 mg.m⁻³) ou 1000 ppm (4340 mg.m⁻³) d'éthylbenzène, 6 à 7 h/jour, 7 j/sem ; les rats ont été exposés pendant les jours 1 à 19 de la gestation (GD 1-19) et les lapins, pendant les jours 1 à 24 de la gestation (GD 1-24). Un groupe distinct de rats a été exposé avant la gestation (pendant 3 semaines avant l'accouplement) et l'exposition a été poursuivie durant la période de gestation. Les concentrations réelles étaient à moins de 10% des concentrations cibles. Tous les animaux gestants ont été sacrifiés 1 jour avant le terme (à 21 jours pour les rats et 30 jours pour les lapins). Les organes maternels (foie, poumons, reins, cœur, rate, glandes surrénales, ovaires, et cerveau) ont été soumis à un examen histopathologique. Les utérus ont été examinés ; les foetus ont été pesés, mesurés (longueur cranio-caudale), le sexe a été déterminé et les anomalies externes, internes et squelettiques ont été recherchées. Pour les analyses statistiques, la portée a été choisie comme unité expérimentale (Andrew *et al.*, 1981 ; Hardin *et al.*, 1981).

Chez le lapin, quel que soit le niveau d'exposition à l'éthylbenzène, aucune embryotoxicité, foetotoxicité ou tératogénicité n'a été relevée. Les résultats de cette étude fournissent une NOAEC de 100 ppm (434 mg.m⁻³) basée sur l'absence d'effets sur le développement chez le lapin.

Chez les rats exposés uniquement pendant la gestation, aucune altération histologique n'a été rapportée sur les différents organes maternels examinés. La principale observation était **l'augmentation significative de l'incidence des côtes surnuméraires et des côtes rudimentaires chez les foetus, dans le groupe exposé à 1000 ppm** ainsi qu'une incidence plus élevée de côtes supplémentaires dans les deux groupes exposés à l'éthylbenzène (100 et 1000 ppm). **Les poids relatifs et absolus du foie, des reins et de la rate et les poids des rates gravides étaient significativement augmentés dans le groupe exposé à 1000 ppm.**

Chez les rats femelles exposées 3 semaines avant l'accouplement et pendant la gestation, **une incidence accrue significative de côtes supplémentaires a été observée chez les fœtus dans le groupe exposé à 1000 ppm**, mais pas à 100 ppm ; aucune augmentation des côtes rudimentaires n'a été observée. Aucun effet sur la fertilité ou sur l'un des autres facteurs évaluant l'intégrité de la fonction reproductive n'ont été relevés. Aucune toxicité fœtale n'a été observée, quel que soit le niveau d'exposition. Le poids corporel, le poids du placenta, et les sexes ratios étaient normaux. **Les poids absolus et relatifs du foie et de la rate étaient augmentés chez les rates gravides du groupe exposé à 1000 ppm ; seul le poids relatif des reins était augmenté de façon significative.** Aucune altération histologique n'a été rapportée dans les différents organes examinés.

Des variations squelettiques ont été observées chez les fœtus de rats pour des expositions à 100 et 1000 ppm (434 et 4340 mg.m⁻³) ; les effets à 100 ppm (434 mg.m⁻³) étaient plus faibles que ceux observés à 1000 ppm (4340 mg.m⁻³). Ces effets sont considérés comme bénins, même à 1000 ppm. L'utilisation de la méthode du poids de la preuve, prenant en compte d'autres effets bénins observés à 1000 ppm, a permis de déterminer que 1000 ppm est une LOAEC.

L'US EPA a utilisé comme dose critique la NOAEC de 100 ppm basée sur l'absence d'effets sur le développement chez le lapin. Etant donné qu'il s'agit d'effets sur le développement, aucun ajustement temporel n'a été réalisé. Etant donné que le rapport de dépôt ou « Regional Gas Dose Ratio » (RGDR)² pour l'éthylbenzène n'était pas connu, aucun ajustement allométrique n'a été appliqué par l'US EPA. La NOAEC équivalente chez l'Homme (NOAEC_{HEC}) est égale à la NOAEC déterminée chez l'animal, soit 434 mg.m⁻³ (100 ppm). **Un facteur d'incertitude de 300** a été appliqué à cette valeur :

- 3 pour prendre en compte la variabilité inter-espèces (UF_A) ;
- 10 pour la variabilité interindividuelle (UF_H) ;
- 10 pour prendre en compte l'absence d'études multigénérationnelles et l'absence d'études chroniques (UF_D).

² Rapport entre le volume de gaz inhalé par minute et la surface des voies respiratoires d'une des trois régions du système respiratoire (extrathoracique, trachéo-bronchique et pulmonaire), qui permet d'établir entre l'animal et l'humain un rapport d'équivalence des doses d'exposition aux gaz.

Tableau 12 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par l'US EPA (1991)

Effet critique Etudes sources	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Effets sur le développement Augmentation chez les femelles gestantes du poids du foie, des reins et de la rate <i>Andrew et al. (1981)</i> <i>Hardin et al. (1981)</i>	Inhalation 0, 100 et 1000 ppm 6 à 7 h/j, 7j/sem, <u>Rats</u> (2 groupes) - GD 1 à 19 - 3 sem avant G + GD 1 à 19 <u>Lapins</u> (GD 1 à 24:)	Rats et lapins	NOAEC = 100 ppm <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = 434 mg.m ⁻³ (100 ppm)	300 UF _A 3 UF _H 10 UF _D 10	RfC = 1.45 mg.m⁻³ (0,33 ppm)

- **VTR OEHHA**

Effet non cancérogène

En 2000, l'OEHHA a proposé comme valeur limite un REL (Reference exposure level) de **2 mg.m⁻³** (0,4 ppm) pour une exposition chronique par inhalation à l'éthylbenzène. Le REL est basé sur l'étude de cancérogénicité menée en 1999 par le NTP ; l'effet critique retenu considère des **atteintes multiples observées chez les rats (atteintes rénales, réduction du poids corporel) et chez les souris (hyperplasie hypophysaire, altérations cellulaires et nécrose hépatiques)**.

Pour rappel, dans l'étude du NTP (1999), des rats F344 et des souris B6C3F1 (50 animaux par sexe par groupe de dose) ont été exposés par inhalation corps entier à des concentrations analytiques de 0, 75, 250, ou 750 ppm d'éthylbenzène 6 h/j, 5 j/sem, pendant 104 semaines. Les animaux ont été observés deux fois par jour et les résultats cliniques enregistrés mensuellement. Les poids corporels ont été relevés tout au long de l'étude et une autopsie complète ainsi qu'un examen microscopique des principaux organes et tissus ont été effectuées sur tous les rats.

Le taux de survie des rats mâles dans le groupe exposé à 750 ppm était significativement inférieur à celui des animaux témoins. Le poids corporel moyen des rats mâles exposés à 250 et 750 ppm était globalement inférieur à celui des animaux témoins (à partir de la 20^{ème} semaine d'exposition). Le poids corporel moyen des groupes de rats femelles exposés étaient généralement inférieurs à ceux des animaux témoins au cours de la deuxième année de l'étude. En plus des tumeurs rénales, l'incidence de l'hyperplasie des tubules rénaux chez les rats mâles exposés à 750 ppm était significativement supérieure à celle des animaux témoins. Chez les rats mâles exposés à 750 ppm d'éthylbenzène, la sévérité de la néphropathie était significativement augmentée par rapport aux animaux témoins. Des augmentations de l'incidence et de la gravité de la néphropathie ont été observées chez tous les groupes de rats femelles exposés (quelle que soit la concentration d'éthylbenzène), mais selon l'OEHHA, celles-ci n'étaient statistiquement significatives qu'à 750 ppm.

A la différence des rats, le taux de survie des souris exposées était similaire à celui des animaux contrôles. Le poids corporel moyen des souris femelles exposées à 75 ppm était supérieur à celui des animaux témoins (de la 72^{ème} semaine jusqu'à la fin de l'étude). Chez les souris femelles exposées à 750 ppm, en plus des tumeurs pulmonaires et hépatiques, l'incidence des foyers

éosinophiles au niveau hépatique était augmentée par rapport aux animaux du groupe contrôle. Une variété de changements hépatiques non néoplasiques liés à l'exposition à l'éthylbenzène a été observée chez les souris mâles, incluant une altération des cellules hépatiques, une hypertrophie hépatocellulaire et une nécrose des hépatocytes. Les incidences de l'hyperplasie du lobe antérieur de l'hypophyse pour des expositions à 250 et 750 ppm d'éthylbenzène chez les souris femelles et les incidences d'hyperplasie des cellules folliculaires de la glande thyroïde pour des expositions à 750 ppm chez les souris mâles et les femelles étaient significativement augmentées par rapport aux souris du groupe contrôle.

Sur la base d'une évaluation de l'ensemble des données disponibles concernant les effets non cancérogènes observés chez les souris et les rats pour des expositions à l'éthylbenzène, l'OEHHA considère que la NOAEC pour les effets non néoplasiques dans l'étude du NTP (1999) est de 75 ppm, et que la LOAEC est de 250 ppm. Si certaines études pour des expositions de plus courtes durée (par exemple, NTP, 1988, 1989, 1990) ont identifié des valeurs de NOAEC plus élevées, l'OEHHA mentionne que l'étude du NTP (1999) est la plus récente disponible et considère qu'il s'agit de l'étude la plus fiable disponible pour l'évaluation des effets chroniques de l'éthylbenzène. Un ajustement temporel a été réalisé (en considérant applicable la loi de Haber) afin de déterminer une concentration critique applicable pour une exposition continue ; la valeur obtenue (NOAEC_{ADJ}) est de 13 ppm. De la même manière que l'US EPA, aucun ajustement allométrique n'a été appliqué par l'OEHHA (utilisation par défaut d'un RGDR égal à 1). Un facteur d'incertitude de 30 a ensuite été appliqué à cette valeur :

- 3 pour prendre en compte la variabilité inter-espèces (UF_A) ;
- 10 pour la variabilité interindividuelle (UF_H).

Tableau 13 : VTR chronique à seuil par inhalation établie par l'OEHHA (2000)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Atteintes multiples : Néphrotoxicité, réduction du poids corporel (<u>rats</u>) Hyperplasie hypophysaire, altérations cellulaires et nécrose hépatiques (<u>souris</u>) <i>NTP (1999)</i>	inhalation – corps entier 0, 75, 250 ou 750 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 104 sem	Rats et souris	NOAEC = 325 mg.m ⁻³ (75 ppm) Ajustement temporel NOAEC _{ADJ} = 56,5 mg.m ⁻³ (13 ppm)	30 UF _A 3 UF _H 10	REL = 2 mg.m⁻³ (0,4 ppm)

Effet cancérogène

Maltoni *et al.* (étude parue à l'origine en 1985; information supplémentaire publiée en 1997) a étudié la cancérogénicité de l'éthylbenzène chez des rats Sprague-Dawley mâles et femelles exposés par gavage. Les auteurs rapportent une augmentation du pourcentage des animaux atteints de tumeurs malignes et des tumeurs des cavités buccale et nasale en lien avec une exposition à l'éthylbenzène. Les rapports d'études manquent d'informations détaillées sur

l'incidence des tumeurs spécifiques, les analyses statistiques, les données de survie, et sur les contrôles historiques. Les résultats d'études de Maltoni *et al.* (1985, 1997) ont été jugés non concluants par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC, 2000) et le National Toxicology Program (NTP, 1999).

Compte tenu du risque potentiel d'exposition significative de l'Homme à l'éthylbenzène, le NTP (1999) a effectué des études par inhalation chez des souris et des rats. Le NTP a identifié des preuves claires d'une activité cancérogène de l'éthylbenzène chez les rats mâles (augmentation des incidences d'adénome ou carcinome des tubules rénaux) et des éléments de preuves chez les rats femelles (adénome des tubules rénaux). Le NTP a également noté une augmentation de l'incidence des adénomes testiculaires chez les rats mâles. L'incidence des adénomes ou carcinomes pulmonaires était augmentée chez les souris mâles, de même que l'incidence des adénomes ou carcinomes hépatocellulaires chez les souris femelles ; ces données fournissent des preuves de l'activité cancérogène de l'éthylbenzène chez les souris mâles et femelles (NTP, 1999).

En 2000, le CIRC a classé l'éthylbenzène dans le groupe 2B, possiblement cancérogène pour l'Homme, sur la base des études du NTP. Le 11 juin 2004, l'État de Californie a inscrit l'éthylbenzène sur la liste des substances connues pour causer le cancer. C'est dans ce contexte que l'OEHHA s'est attaché à prévoir en 2007, une estimation du risque de cancer lié à une exposition vie entière à l'éthylbenzène.

L'OEHHA précise que **les valeurs d'excès de risque unitaire (ERU) de cancer pour une exposition à l'éthylbenzène ont été dérivées à partir des données du NTP (1999) sur les tumeurs rénales observées chez le rat mâle**, en utilisant un modèle multi-étapes linéarisé (LMS : linearized multistage) avec pondération des doses sur la durée de vie moyenne. L'OEHHA propose un ERU construit selon la méthode LMS de $2,5 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$ pour une exposition vie entière par voie respiratoire à l'éthylbenzène.

Tableau 14 : VTR chronique sans seuil par inhalation établie par l'OEHHA (2007)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Extrapolation aux faibles doses	VTR
Atteintes rénales Développement de tumeurs rénales chez le rat mâle <i>NTP, 1999</i>	inhalation – corps entier 0, 75, 250 ou 750 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 104 sem	Rats	LMS	ERU = $2,5 \cdot 10^{-6} (\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3})^{-1}$

- **Valeur guide OMS**

En 1996, l'OMS a proposé une valeur guide pour protéger la population générale de **22 mg.m⁻³** (5 ppm) pour une exposition chronique par inhalation à l'éthylbenzène issue d'une série de documents (de l'EHC (Environmental Health Criteria) produits dans le cadre du programme IPCS. L'effet critique retenu par l'OMS pour construire cette valeur est une atteinte hépatique ; il s'agit de l'observation d'une **augmentation statistiquement significative du poids relatif du foie sans modifications de l'histologie hépatique** d'après les résultats de l'étude du NTP (1992).

Dans cette étude, des rats (F344) et souris (B3C6F1), (n=10/sexe/dose) ont été exposés par inhalation à des concentrations d'éthylbenzène de 0, 100, 250, 500, 750 ou 1000 ppm, 6 heures/jour, 5 jours/semaine, pendant 13 semaines (90 jours). Pour une exposition à des concentrations supérieures ou égales à 750 ppm (3225 mg.m⁻³), les auteurs ont observé chez le rat mâle une augmentation du poids relatif du foie sans modification de l'histologie hépatique. L'OMS a donc choisi de retenir une NOAEC de 500 ppm pour la construction de sa valeur guide.

Un facteur d'incertitude (UF) de 100 a été appliqué à cette concentration :

- 10 pour tenir compte de la variabilité inter-espèces (UF_A) ;
- 5 pour tenir compte de la variabilité interindividuelle (UF_H) : les effets ont été observés chez les rats mâles uniquement ;
- 2 pour tenir compte du manque de données relatives à la toxicité chronique de l'éthylbenzène (UF_D).

Tableau 15 : Valeur guide de l'OMS pour une exposition chronique à l'éthylbenzène (1996)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Augmentation du poids relatif du foie sans modifications de l'histopathologie hépatique <i>NTP (1992)</i>	inhalation – corps entier 0, 100, 250, 500, 750 ou 1000 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 13 sem.	Rats mâles	NOAEC = 2150 mg.m ⁻³ (500 ppm)	100 UF _A = 10 UF _H = 5 UF _D = 2	VG = 22 mg.m⁻³ (5 ppm)

4.4 Synthèse des VG et VTR disponibles pour une exposition par inhalation

Les tableaux ci-après (Tableau 16 et Tableau 17) décrivent les VTR par inhalation de l'éthylbenzène établies par différents organismes internationaux pour des expositions aiguë, subchronique et chronique.

Tableau 16 : VG/VTR disponibles pour une exposition aiguë par inhalation

Organisme	ATSDR	AEGL Committee (US EPA)
Population cible	population générale (incluant les individus sensibles)	population générale (incluant les individus sensibles) (<i>en vue d'une utilisation dans les interventions d'urgence chimique</i>)
VTR	MRL	AEGL-1
Durées d'exposition	1 à 14 jours	10 min, 30 min, 1h, 4h et 8h
Valeur VTR	22 mg.m⁻³ (5 ppm)	144 mg.m⁻³ (33 ppm)
Année	2010	2009
Effet critique	Effets ototoxiques : déplacement du seuil auditif	Effets sur le SNC : maux de tête, somnolence, narcose transitoire Irritation des voies respiratoires et des yeux
Espèce	rat (Wag/Rij)	Homme
Type d'exposition	0, 300, 400, ou 550 ppm, 8h/jour pendant 5 jours	100 et 180 ppm pendant 8h
Voie d'exposition	inhalation	inhalation
Dose critique source	BMCL_{HEC} = 154,26 ppm pour la dérivation du MRL une BMCL _{1SD} de 81,10 µmol/L correspondant à une modification des potentiels évoqués auditifs en réponse à des stimuli sonores (Hz) a été utilisée	NOAEC = 100 ppm 100 ppm : pas d'effets 180 ppm (LOAEC) : irritations des voies respiratoires et des yeux; effets sur le SNC (maux de tête, fatigue, somnolence, narcose transitoire)
Ajustements	Modèle PBPK utilisé pour estimer la dose interne = ajustement dosimétrique pour passer de l'animal à l'Homme	non
UF	30	3
Etude source	Cappaert <i>et al.</i> (2000)	Bardodej et Bardodejova (1961)

MRL : Minimal Risk Level ; AEGL : Acute Exposure Guideline Levels.

Tableau 17 : VG/VTR disponibles pour des expositions subchronique/chronique par inhalation

	VTR subchronique	Valeur guide/VTR chronique à seuil					VTR chronique sans seuil
Organisme	ATSDR	US EPA	OMS	OEHHA	RIVM	ATSDR	OEHHA
VTR	MRL	RfC	VG	REL	TCA	MRL	ERU
Valeur VTR	8,7 mg.m⁻³ (2 ppm)	1 mg.m⁻³	22 mg.m⁻³ (5 ppm)	2 mg.m⁻³ (0,4 ppm)	0,77 mg.m⁻³	0,26 mg.m⁻³ (0,06 ppm)	2,5.10⁻⁶ (µg.m⁻³)⁻¹
Année	2010	1991	1996	2000	2001	2010	2007
Effet critique	Ototoxicité Déplacement du seuil auditif et perte de cellules ciliées externes	Effets sur le développement Augmentation chez les femelles gestantes du poids du foie, des reins et de la rate	Atteinte hépatique Augmentation du poids relatif du foie sans modifications de l'histopathologie hépatique	Atteintes <u>multiples</u> Néphrotoxicité, diminution du poids corporel (rats) Hyperplasie de l'hypophyse; altérations cellulaires et nécrose du foie (souris)	Atteinte hépatique Augmentation du poids absolu du foie	Atteinte rénale Augmentation de la sévérité des néphropathies progressives chroniques chez les rats femelles	Reins Développement de tumeurs rénales chez le rat mâle
Espèce	Rat	Rat et lapin	Rat	Rat et souris	Souris et rat	Rat	Rat
Type d'exposition	0, 200, 400, 600 et 800 ppm 6h/j, 6j/sem, pendant 13 sem	0, 100 et 1000 ppm 6 à 7 h/j, 7j/sem, <u>Rats</u> : GD 1 à 19 (1 gpe + 3 sem avant G) <u>Lapins</u> : GD 1 à 24	0, 100, 250, 500, 750 et 1000 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 13 sem	0, 75, 250 ou 750 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 104 sem	0, 100, 250, 500, 750 et 1000 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 13 sem	0, 75, 250 ou 750 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 104 sem	0, 75, 250 ou 750 ppm 6h/j, 5j/sem, pendant 104 sem
Voie d'exposition	inhalation	inhalation	inhalation	inhalation	inhalation	inhalation	inhalation
Dose critique	BMCL_{HEC} 63,64 ppm (276,2 mg.m⁻³)	NOAEC 100 ppm LOAEC 1000 ppm	NOAEC 2150 mg.m⁻³ (500 ppm)	NOAEC 75 ppm LOAEC 250 ppm	NOAEC 430 mg.m⁻³ (100 ppm)	LOAEC 75 ppm (326 mg.m ⁻³)	Modèle LMS
Ajustements	Modèle PBPK	non	non	temporel	temporel	Modèle PBPK	-
UF	30	300	100	30	100	300	-
Référence	Gagnaire <i>et al.</i> (2007)	Andrew <i>et al.</i> (1981); Hardin <i>et al.</i> (1981)	NTP (1992)	NTP (1999)	NTP (1992)	NTP (1999)	NTP (1999)

MRL : Minimal Risk Level ; RfC : Reference concentration; REL : Risk exposure level; TCA : Tolerable concentration in air; ERU : excès de risque unitaire.

5 Proposition de VTR

5.1 Exposition aiguë

5.1.1 Choix de l'effet critique

A l'issue de l'analyse des données de toxicité aiguë disponibles chez l'Homme et l'animal, les effets observés pour les plus faibles doses sont l'ototoxicité, l'atteinte du SNC et les effets hépatiques.

- Les études chez l'animal suggèrent que le **système auditif** est une cible sensible des effets toxiques de l'éthylbenzène. En effet, une perte significative et irréversible des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti a été observée chez les rats après une exposition aiguë à l'éthylbenzène dès 400 ppm (dès 200 ppm pour une exposition de durée intermédiaire). Cette atteinte cochléaire s'accompagne d'une augmentation significative du seuil auditif dans la zone des fréquences moyennes ;
- Des effets sur le **SNC** (activation modérée de l'activité motrice, narcose, changements de postures, excitation, salivation et prostration) ont également été observés en lien avec une exposition aiguë à l'éthylbenzène dès 400 ppm ;
- Une **augmentation du poids (absolu et relatif) du foie** après une exposition aiguë à l'éthylbenzène a été rapportée chez des rats dès 400 ppm.

La dose critique pour laquelle ces 3 types d'effets ont été observés est identique dans toutes ces études, il s'agit de **400 ppm** (1740 mg.m^{-3}) (Tableau 18).

Tableau 18 : Effets sanitaires observés pour les plus faibles doses suite à une exposition aiguë par inhalation à l'éthylbenzène

Référence	Effets observés	Dose critique	Concentrations d'exposition	Durée	Espèce
Cappaert <i>et al.</i> (2000)	Effet ototoxique Augmentation du seuil auditif Altérations de la morphologie cochléaire : perte irréversible des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti	LOAEC : 400 ppm (1740 mg.m^{-3}) NOAEC : 300 ppm	0, 300, 400 et 550 ppm	8h/j ; 5j	Rats
Molnar <i>et al.</i> (1986)	Effet neurotoxique Augmentation modérée de l'activité motrice	LOAEC : 400 ppm (1740 mg.m^{-3}) NOAEC : 1500 ppm	100 à 4000 ppm	4h	Rats
Association éthylbenzène producteurs (1986a)	Effet hépatique Augmentation concentration-dépendante des poids absolu et relatif du foie	LOAEC : 400 ppm (1740 mg.m^{-3})	0, 400, 1200 ou 2400 ppm	6h/j ; 4 j	Rats

Concernant l'observation d'une atteinte hépatique, les experts de l'Agence ont conclu que le fait que l'augmentation des poids absolu et relatif du foie apparaisse en l'absence de modifications histopathologiques suggère qu'il s'agit d'un effet adaptatif du foie. Il n'est donc pas pertinent de retenir cet effet en tant qu'effet adverse.

Les experts de l'Agence concluent que les effets ototoxiques et les atteintes du SNC observés pour une exposition aiguë à l'éthylbenzène constituent des effets néfastes.

Afin de déterminer l'effet critique à retenir entre ces 2 types d'effets, les experts ont analysé la qualité des études sources ayant conduit à l'observation de ces effets aux plus faibles doses ainsi que la transposabilité à l'Homme des effets observés chez l'animal.

Après analyse, les experts de l'Anses considèrent que l'étude de Molnar *et al.* (1986), décrivant des effets sur le SNC de l'éthylbenzène pour une exposition aiguë chez le rat, est de qualité médiocre (nombreuses informations manquantes en termes de protocole expérimental, méthode de mesure comportementale arbitraire dont l'interprétation est discutable et présentation des résultats difficilement interprétable).

Le niveau de qualité de l'étude de Cappaert *et al.* (2000) est quant à lui élevé ; le protocole est bien détaillé et les tests mis en œuvre pour évaluer les atteintes du système auditif sont tous des tests objectifs (mesure des EOA, électrocochléographie et analyse histologique cochléaire).

Avant de conclure définitivement sur le choix de l'ototoxicité en tant qu'effet critique et en l'absence de données humaines pour une exposition à l'éthylbenzène seul, se pose la question de la pertinence de transposer à l'Homme les effets ototoxiques observés chez l'animal (Pierre Campo, INRS, communication personnelle).

Le rat est le meilleur modèle animal disponible pour étudier les effets ototoxiques potentiels de l'éthylbenzène chez l'Homme ; la voie principale d'oxydation se fait comme chez l'Homme, par l'intermédiaire des CYP450, 2E1 (Cappaert *et al.*, 2002) et les métabolites sont communs (acide mandélique et acide phénylglyoxylique) (OMS, 1996).

Selon Campo *et al.* (2014), l'exposition aux solvants aromatiques entraîne 2 effets distincts sur le système auditif : un effet neuropharmacologique immédiat sur les récepteurs neuronaux impliqués dans les réflexes olivo-cochléaires et stapédiens (réflexes de protection de l'oreille qui se déclenchent lorsque les niveaux de bruit sont élevés) et un effet cochléotoxique retardé sur le récepteur périphérique (altérations des structures cochléaires causées par le transport par voie sanguine des substances chimiques au niveau de la cochlée). Quelques éléments de définition concernant l'anatomie fonctionnelle du système auditif sont disponibles en Annexe 2.

Il existe une signature histopathologique chez l'Homme et l'animal des effets cochléotoxiques induits par une exposition aux solvants aromatiques dont l'éthylbenzène : les lésions observées sur la cochlée se font toujours de la 3^{ème} vers la 1^{ère} rangée de cellules ciliées externes. Il n'existe pas en revanche de signature spécifique d'un solvant ototoxique en termes de fréquences atteintes, c'est le spectre du bruit ambiant qui va induire les pertes

dans une gamme de fréquences spécifique (Venet *et al.*, 2015). Il est toutefois possible de transposer chez l'Homme les fréquences atteintes chez l'animal en connaissant les fonctions de transfert de l'oreille externe et moyenne.

Si aucune donnée épidémiologique ou clinique spécifique à l'ototoxicité de l'éthylbenzène seul chez l'Homme n'est actuellement disponible, les effets cochléotoxiques induits par l'exposition à d'autres solvants aromatiques structurellement proches tels que le toluène et le styrène (présence d'un noyau benzénique et d'une chaîne aliphatique courte) sont comparables à ceux de l'éthylbenzène. Les solvants aromatiques possédant un noyau benzénique et une chaîne latérale courte seraient capables de causer des effets ototoxiques ; les caractéristiques chimiques des différents solvants aromatiques étant proches, leurs effets toxiques sur la cochlée seront voisins. Par ailleurs, d'après des études comparatives des niveaux de cochléotoxicité de plusieurs solvants aromatiques chez le rat, l'éthylbenzène est plus cochléotoxique que le toluène et le styrène, cela signifie qu'à concentration égale, il inflige plus de dommages à l'organe de Corti (Gagnaire *et al.*, 2005).

Les experts de l'Anses concluent que la transposition à l'Homme des effets ototoxiques observés chez le rat pour une exposition aiguë à l'éthylbenzène est pertinente.

Conclusions des experts :

L'effet critique retenu pour la construction de la VTR aiguë est donc l'effet ototoxique observé d'après l'étude source de Cappaert *et al.* (2000).

5.2 Analyse des différentes VTR/VG par inhalation pour une exposition aiguë

- **Analyse de la construction de la VTR de l'ATSDR (2010)**

L'ATSDR a proposé en 2010 un MRL (Minimal Risk Level) pour une exposition aiguë (14 jours maximum) de 5 ppm (22 mg.m⁻³), considérant comme effet critique le déplacement du seuil auditif (la description détaillée de la VTR de l'ATSDR est disponible dans le paragraphe 4.1 « des expositions aiguës »). Le tableau ci-dessous reprend les principaux éléments liés à la construction de cette VTR.

Tableau 19 : VTR aiguë par inhalation établie par l'ATSDR (2010)

Effet critique Etude source	Exposition (voie, dose, durée)	Espèce	Dose critique	UF	VTR
Effets neurologiques Déplacement du seuil auditif <i>Cappaert et al. (2000)</i>	inhalation – corps entier 0, 300, 400, ou 550 ppm 8h/j, pendant 5 j	Rats (Wag/Rij)	BMCL _{1SD} = 81,10 µmol/L Ajustement dosimétrique BMCL _{HEC} = 154,26 ppm	30 UF _A 3 UF _H 10	MRL = 5 ppm (22 mg.m ⁻³)

Le principe de construction de la VTR ATSDR est la « dosimétrie inversée ». L'hypothèse de départ est que chez l'Homme, on peut s'attendre à ce qu'une même concentration interne provoque les mêmes effets que ceux observés chez l'animal (sous réserve de l'application d'un facteur d'incertitude relatif à la composante toxicodynamique). La démarche consiste dans un premier temps, à estimer les concentrations sanguines d'éthylbenzène chez les rats (concentrations internes : $Conc_{int}$) correspondantes aux différentes concentrations d'exposition testées dans l'étude source (concentrations externes : $Conc_{ext}$) à l'aide d'un modèle PBPK rat (Tardif *et al.*, 1997 ; Marchand *et al.*, 2015). Il s'agit ensuite de calculer la $Conc_{int}$ critique au-delà de laquelle le niveau de réponse est jugé adverse. Puis finalement, à l'aide d'un modèle PBPK humain (Marchand *et al.*, 2015), il s'agira d'estimer la concentration atmosphérique d'éthylbenzène à laquelle est exposé l'Homme, correspondant à la $Conc_{int}$ critique identifiée.

Les experts de l'Anses ont procédé à une analyse critique des modèles PBPK utilisés par l'ATSDR pour construire la VTR. D'après les résultats de cette analyse, les modèles en question sont des modèles publiés, qui présentent une bonne capacité prédictive (pour des expositions à des concentrations diverses, bonne adéquation entre ce qui est mesuré et ce qui est calculé) et leur utilisation s'avère pertinente dans le cadre de l'élaboration d'une VTR pour des expositions aiguës à l'éthylbenzène.

Par ailleurs, la méthode de construction de la VTR ATSDR a été soumise à une analyse détaillée. Les différentes étapes de la construction de la dose critique (1. Transformation des expositions atmosphériques en concentrations artérielles à partir du modèle PBPK chez le rat ; 2. Modélisation de la relation entre l'augmentation de l'ototoxicité et la concentration artérielle journalière estimée / courbe dose-réponse ; 3. Reconstruction de l'exposition atmosphérique de l'Homme à partir de la concentration artérielle) ont été passées au crible et validées par les experts de l'Anses. De même, le choix du facteur d'incertitude de 30 (3 pour la variabilité inter-espèce et 10 pour la variabilité interindividuelle) est cohérent avec les méthodes mises en œuvre au sein de l'Agence.

Conclusion des experts :

A la lumière de toutes ces informations, les experts de l'Anses ont conclu que la VTR aiguë élaborée par l'ATSDR était de bonne qualité et répondait bien aux exigences de l'Agence en termes de méthode de construction; ils proposent donc de retenir cette valeur de 22 mg.m^{-3} (5 ppm) en tant que VTR aiguë.

5.3 Niveau de confiance

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

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données : moyen car il n'existe aucune étude indiquant une ototoxicité chez l'Homme.

- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : fort. Malgré le fait de ne pas avoir d'étude chez l'Homme mettant en évidence une ototoxicité, il existe des études chez l'Homme pour d'autres solvants organiques de structure très proche et entraînant des effets similaires, ce qui permet d'avoir confiance dans le choix de l'effet critique et du mode d'action.
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : fort
- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique : moyen. L'effet apparaît à 400 ppm mais on ne sait pas ce qui se passe aux doses inférieures.

Ainsi, en l'état des connaissances, le niveau de confiance global pour cette VTR est donc **moyen/fort**.

5.4 Proposition de VTR subchronique et chronique par inhalation

5.4.1 Choix de l'effet critique

A l'issue de l'analyse des données de toxicité subchronique/chronique disponibles chez l'Homme et l'animal, les effets observés pour les plus faibles doses d'exposition à l'éthylbenzène sont la néphrotoxicité et l'ototoxicité. Les informations principales relatives aux 2 études sources correspondantes sont recensées dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Effets sanitaires observés pour les plus faibles doses suite à une exposition subchronique/chronique par inhalation à l'éthylbenzène

Référence	Effets observés	Dose critique	Concentrations d'exposition	Durée	Espèce
NTP (1999)	Effet rénal Aggravation de la néphropathie progressive chronique	LOAEC : 75 ppm (326 mg.m ⁻³)	0, 75, 250 ou 750 ppm	6h/j 5j/sem 104 sem	Rats F344 <u>femelles</u>
Gagnaire et al. (2007)	Effet ototoxique Altérations de la morphologie cochléaire : perte significative des cellules ciliées externes dans l'organe de Corti	LOAEC : 200 ppm (800 mg.m ⁻³)	0, 200, 400, 600 et 800 ppm	6h/j 6j/sem 13 sem	Rats S-D <u>mâles</u>

- **Effet rénal**

Les études chez le rat indiquent que des expositions subchronique et chronique à l'éthylbenzène par inhalation sont responsables d'atteintes rénales dont la gravité semble croître avec la durée d'exposition. Les effets rénaux liés à une exposition subchronique sont

similaires à ceux observés après une exposition aiguë (augmentation du poids des reins, induction des enzymes rénales microsomales, et changements associés à l'accumulation de α_2 -microglobuline). Pour une exposition chronique par inhalation, une seule étude est disponible chez l'animal et les effets rénaux observés sont plus sévères : néphropathie progressive chronique, hyperplasie du tubule rénal ainsi que des adénomes et des carcinomes des tubules rénaux. Il s'agit de l'étude du NTP (1999), conduite chez des rats et des souris des 2 sexes pendant 2 ans.

Selon les résultats de cette étude, une néphropathie progressive chronique liée à l'âge a été observée chez les rats témoins (47/50 rats mâles atteints et 38/50 femelles atteintes) (voir Tableau 21). Dans le cadre de l'observation d'une néphropathie progressive chronique (groupes contrôles et exposés), le degré moyen de sévérité des lésions chez les animaux touchés a été évalué; il s'agit d'une procédure classiquement mise en œuvre par le NTP pour l'analyse des lésions rénales (Doi *et al.*, 2007). Il s'agit de la moyenne des scores de sévérité attribués aux rats touchés au sein du groupe d'exposition concerné. Pour chaque rat, quatre niveaux de sévérité sont attribuables ; 1 = minime ; 2 = léger ; 3 = modéré ; 4 = marqué. Comparativement aux animaux contrôles, **la gravité de la néphropathie progressive chronique était augmentée chez les rats femelles exposés à ≥ 75 ppm (326 mg.m^{-3}) d'éthylbenzène** ainsi que chez des rats mâles exposés à 750 ppm (3260 mg.m^{-3}) d'éthylbenzène.

A 750 ppm, l'exposition chronique à l'éthylbenzène induit également chez les rats mâles une hyperplasie significative du tubule rénal (lésion pré-néoplasique) ainsi qu'une augmentation significative de l'incidence des adénomes et carcinomes des tubules rénaux. Chez les rats femelles, l'exposition à 750 ppm est associée à une incidence accrue des adénomes des tubules rénaux.

Aucune atteinte rénale n'est observée chez les souris des 2 sexes testées dans cette étude.

Tableau 21 : Atteintes rénales observées chez les rats des 2 sexes dans l'étude du NTP (1999)

	Groupe contrôle	Groupes d'animaux exposés à l'éthylbenzène		
		75 ppm	250 ppm	750 ppm
Rats mâles	47/50 (94%)	43/50 (86%)	47/50 (94%)	48/50 (96%)
degré moyen de sévérité des lésions	2,3	2,4	2,3	3,5**
Rats femelles	38/50 (76%)	42/50 (84%)	43/50 (86%)	46/49 (94%)
degré moyen de sévérité des lésions	1,3	1,6*	1,7**	2,3**

Aucune donnée chez l'Homme n'est disponible quant à l'observation d'effets rénaux en lien avec une exposition subchronique ou chronique à l'éthylbenzène. Par ailleurs, les mécanismes à l'origine de la toxicité rénale observée chez le rat en lien avec une exposition chronique à l'éthylbenzène n'ont pas été élucidés. Chez les rats mâles, il est connu que l'accumulation d' $\alpha_2\mu$ -globuline dans les cellules épithéliales des tubules rénaux est associée à une nécrose tubulaire épithéliale, une prolifération régénérative et des tumeurs rénales. L' $\alpha_2\mu$ -globuline étant une protéine sécrétée exclusivement chez le rat mâle, la toxicité rénale induite par ce mécanisme est donc spécifique au rat mâle et non transposable à l'Homme. En l'absence de données sur le mécanisme à l'origine des effets néphrotoxiques induits par l'éthylbenzène, il n'est donc pas pertinent de considérer les atteintes rénales observées chez le rat mâle pour évaluer les effets potentiels chez l'Homme (atteintes non cancérogènes et cancérogènes). Le mécanisme impliqué dans les atteintes rénales observées chez les rats femelles est inconnu mais ne met pas en jeu l' $\alpha_2\mu$ -globuline, il est donc pertinent de s'intéresser aux effets rénaux et notamment l'aggravation de la néphropathie progressive chronique (effet apparaissant à la concentration la plus faible) observés chez le rat femelle.

La néphropathie progressive chronique est une maladie liée à l'âge se manifestant spontanément chez les rats de laboratoire et sa transposabilité à l'Homme est largement discutée dans la communauté scientifique (Hard *et al.*, 2009). Si l'analyse de l'aggravation de la néphropathie progressive chronique, via le score proposé par le NTP (1999), montre une significativité dès 75 ppm chez les rats femelles, le nombre d'animaux atteints chez les rats des 2 sexes et quelle que soit la concentration d'exposition, n'est pas significativement différent du nombre de rats présentant une néphropathie chronique progressive dans les groupes témoins. L'effet observé relève donc de l'aggravation d'une pathologie préexistante, or, il n'existe pas chez l'Homme d'analogie claire à la néphropathie progressive chronique. La néphropathie observée dans l'étude du NTP (1999) a par exemple été caractérisée par un spectre de modifications incluant une dilatation des tubules rénaux, une fibrose interstitielle et une infiltration de cellules mononucléaires inflammatoires, des foyers de régénération tubulaire et une hyperplasie épithéliale de transition de la papille rénale. Si ces signes cliniques sont proches de ceux observables chez l'Homme, ils ne sont pas spécifiques d'une pathologie rénale précise. Par ailleurs, certains scientifiques considèrent qu'il s'agit d'un effet propre à l'espèce, les souris exposées à des doses semblables ou supérieures d'éthylbenzène dans l'étude du NTP (1999) ne présentant aucune atteinte rénale. **Les experts de l'Anses considèrent que les données disponibles sont insuffisantes pour conclure quant à la plausibilité de transposer à l'Homme l'aggravation de la néphropathie progressive chronique observée chez les rats femelles.**

- **Effet ototoxique**

Les effets ototoxiques de l'éthylbenzène par inhalation ont été observés chez les rats après une exposition subchronique. Dans une étude de Gagnaire *et al.* (2007) conduite chez le rat pour une exposition par inhalation à l'éthylbenzène pendant 13 semaines, les analyses

histologiques réalisées 8 semaines après l'exposition ont mis en évidence des **pertes significatives des cellules ciliées externes chez les rats exposés à des concentrations d'éthylbenzène \geq 200 ppm**. Les déficits auditifs causés par l'éthylbenzène observés durant la période d'exposition persistaient 8 semaines après l'exposition, chez les rats exposés à des concentrations d'éthylbenzène \geq 400 ppm. Des pertes de cellules ciliées internes (14-32%) ont également été observées chez les rats exposés à 600 et 800 ppm d'éthylbenzène, et de manière non systématique chez les rats exposés à 400 ppm d'éthylbenzène (Gagnaire *et al.*, 2007).

Aucune donnée chez le rat n'est disponible quant à l'ototoxicité de l'éthylbenzène pour des expositions chroniques par inhalation. Il est cependant à noter que les atteintes du système auditif observées dans l'étude de Gagnaire *et al.* (2007) sont semblables de par leur nature et leur chronologie, à celles observées pour des expositions aiguës : perte des cellules ciliées externes touchant en premier lieu la 3^{ème} rangée de cellules ciliées externes, augmentation des seuils auditifs (baisse de l'audition) puis pertes des cellules ciliées internes (Cappaert *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2002). Les pertes de cellules ciliées externes observées pour une exposition subchronique apparaissent à des concentrations d'éthylbenzène inférieures (200 ppm) aux concentrations responsables des mêmes effets pour des expositions aiguës (400 ppm). Par ailleurs, la destruction des cellules ciliées est irréversible ; la baisse de l'audition induite par la cochléotoxicité de l'éthylbenzène est donc persistante. **En l'absence de données chez l'animal pour des expositions chroniques et au regard de ces observations, les experts de l'Anses concluent qu'il est pertinent de considérer que des effets ototoxiques sont susceptibles d'apparaître chez le rat pour des expositions chroniques par inhalation, probablement à des niveaux de concentrations d'éthylbenzène inférieurs à ceux testés dans les études pour des durées d'expositions aiguës et subchroniques (en vertu de la loi de Haber).**

Aucune donnée chez l'Homme n'est disponible quant à l'observation d'effets ototoxiques en lien avec une exposition subchronique ou chronique à l'éthylbenzène seul. Néanmoins, considérant les éléments issus de la consultation de Pierre Campo, notamment l'adéquation du modèle rat pour l'étude des effets ototoxiques induits par l'éthylbenzène, la compréhension des mécanismes ototoxiques des solvants aromatiques, l'existence d'une signature histopathologique des effets cochléotoxiques liés aux solvants aromatiques et le fait que les effets cochléotoxiques induits par le toluène et le styrène chez l'Homme sont comparables à ceux de l'éthylbenzène ; **les experts de l'Anses concluent que la transposition à l'Homme des effets ototoxiques observés chez le rat pour des expositions subchronique ou chronique à l'éthylbenzène est pertinente.**

Conclusion des experts :

Sur la base des informations disponibles, notamment le manque de données quant à la transposabilité à l'Homme des effets rénaux observés chez les rats femelles, les experts de l'Anses ont jugé non pertinent d'utiliser l'aggravation de la néphropathie

progressive chronique induite par l'éthylbenzène en tant qu'indicateur fiable du risque encouru par l'Homme.

Concernant les effets cancérogènes possibles suite à une exposition chronique à l'éthylbenzène, de fortes interrogations subsistent actuellement sur le mécanisme d'action et la transposition chez l'Homme des tumeurs induites chez l'animal par l'éthylbenzène, substance classée cancérogène possible (groupe 2B) par le CIRC. En l'état actuel des connaissances, il n'est pas possible d'écarter le potentiel cancérogène de la substance pour l'Homme. Néanmoins, les résultats des études de génotoxicité semblent écarter l'hypothèse d'un mécanisme génotoxique ce qui laisse présager l'existence d'un seuil de dose. Ainsi, l'élaboration d'une VTR basée sur des effets ototoxiques mis en évidence pour une exposition subchronique à 200 ppm protégerait donc *a priori* de l'apparition de tumeurs rénales chez l'animal, observées pour une exposition chronique à une concentration de 750 ppm.

Le CES a retenu comme effet critique pour la construction de la VTR chronique l'effet ototoxique « perte de cellules ciliées externes » d'après l'étude source de Gagnaire *et al.* (2007).

5.5 Analyse des différentes VG/VTR existantes

- Analyse des valeurs de référence subchroniques

Il existe une VTR subchronique proposée par l'ATSDR de 8,7 mg.m⁻³ établie sur le déplacement du seuil auditif. Des effets ototoxiques ont été observés chez les rats après par inhalation pour une exposition subchronique/chronique

Analyse de la VG de l'OMS

En 1996, l'OMS a proposé une valeur guide pour protéger la population générale de 22 mg.m⁻³ (5 ppm) pour une exposition chronique par inhalation à l'éthylbenzène issue d'une série de documents de l'EHC (Environmental Health Criteria) produits dans le cadre du programme IPCS. L'effet critique retenu par l'OMS pour construire cette valeur est une atteinte hépatique.

L'OMS n'a pas considéré l'effet ototoxique comme effet critique pour la construction de sa valeur car les données relatives à l'ototoxicité n'étaient pas disponibles à l'époque.

Les experts de l'Anses ne retiennent pas la VG de l'OMS en tant que VTR chronique.

Analyse des VTR

Quatre VTR chroniques par inhalation sont disponibles pour des effets à seuil, proposées par l'US EPA (1991), l'OEHHA (2000), le RIVM (2001) et l'ATSDR (2010).

La VTR construite par l'US EPA considère comme effet critique la toxicité sur le développement, l'effet critique retenu par l'OEHHA concerne des atteintes multiples observées chez les rats (atteintes rénales, réduction du poids corporel) et chez les souris (hyperplasie hypophysaire, altérations cellulaires et nécrose hépatiques), le RIVM a choisi

l'effet sur le foie comme effet critique et l'effet critique considéré par l'ATSDR est un effet rénal.

Une VTR chronique sans seuil par inhalation a été établie par l'OEHHA (2007) afin de prendre en compte le risque de cancer rénal observé chez les rats mâles.

Aucune des VTR chroniques existantes n'a été construite en considérant l'effet ototoxique comme effet critique notamment car pour les VG construites avant 2000, les données relatives à l'ototoxicité n'étaient pas disponibles (une description détaillée de ces valeurs est disponible dans le paragraphe 4.3 « VTR pour des expositions chroniques (vie entière) »).

- L'ATSDR (2010) a proposé une VTR subchronique sur la base d'un effet critique ototoxique (le déplacement du seuil auditif) observé d'après l'étude de Gagnaire *et al.* (2007) ; cette VTR ne peut pas être retenue en tant que VTR chronique d'une part puisque son mode de construction la rend applicable pour des durées d'exposition subchroniques et d'autre part parce qu'elle est construite en considérant comme effet critique le déplacement du seuil auditif alors que l'effet apparaissant aux plus faibles concentrations est la perte de cellules ciliées externes (une description détaillée de ces valeurs est disponible dans le paragraphe

□«

Conclusion des experts :

Les experts de l'Anses ne retiennent aucune des VTR et valeurs guides existantes et proposent de construire une VTR chronique en considérant les données disponibles sur les effets ototoxiques.

5.6 Construction des VTR subchronique et chronique par inhalation

5.6.1 Choix de l'étude clé

L'étude de **Gagnaire *et al.* (2007)** pour laquelle les effets ototoxiques de l'éthylbenzène par inhalation ont été observés chez les rats après une exposition subchronique (13 semaines), **a été jugée de bonne qualité et a par ailleurs été choisie par l'ATSDR pour la construction de sa VTR subchronique.**

Dans cette étude, des rats mâles (14 rats par groupe d'exposition) ont été exposés corps entier par inhalation à des concentrations analytiques de 0, 200, 400, 600 et 800 ppm d'éthylbenzène, 6 heures par jour, 6 jours par semaine, pendant 13 semaines. L'effet ototoxique a été évalué ; d'une part, *via* la réalisation d'une électrocochléographie dans la gamme des fréquences de 1 à 24 kHz et la mesure des émissions oto-acoustiques (EOA) par produits de distorsion dans la gamme des fréquences de 4 à 22,6 kHz après 4, 8 ou 13 semaines d'exposition ainsi que 8 semaines après arrêt de l'exposition ; d'autre part, *via* une analyse histopathologique de la cochlée des animaux en microscopie optique 8 semaines après arrêt de l'exposition.

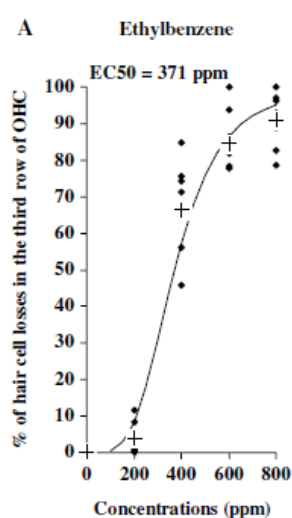
Les auteurs ont observé une baisse de l'audition chez les animaux exposés dès 400 ppm d'éthylbenzène comparativement aux animaux du groupe témoin. Les auteurs ont mis en évidence *via* l'évaluation morphologique de l'organe de Corti, des pertes de cellules ciliées externes au niveau de la 3^{ème} rangée de cellules ciliées externes dépendantes de la concentration d'éthylbenzène ; les pertes étaient significatives dès 200 ppm et étaient quasiment complètes pour des expositions à 600 et 800 ppm. Aucune perte significative de cellules ciliées n'a été observée chez les animaux du groupe contrôle.

Bien que réalisée sur seulement 13 semaines, **les experts de l'Anses ont jugé que cette étude pouvait être retenue pour la construction des VTR subchronique et chronique.**

5.6.2 Choix de la concentration critique

Les résultats de l'étude de Gagnaire *et al.* (2007) ont été retenus pour le calcul de la benchmark concentration (BMC). Les données issues de cette étude ont été modélisées avec le logiciel Proast 38.9 du RIVM afin de déterminer une BMC.

Le graphe et le tableau ci-après décrivent le pourcentage de perte de cellules ciliées externes en fonction de la concentration d'exposition à l'éthylbenzène.



Concentration d'éthylbenzène (ppm)	% de perte de cellules ciliées externes	SD (Ecart-type)	N (nombre de rats par groupe)
0	0,346	0,159	7
200	3,67	4,24	8
400	67,12	12,26	8
600	85,58	7,68	8
800	90,81	7,36	8

Figure 3 : Pourcentage de perte de cellules ciliées externes en fonction de la concentration d'exposition à l'éthylbenzène

L'objectif de la démarche est d'estimer la concentration correspondant à un niveau de réponse défini ou à un pourcentage défini de réponse supplémentaire par rapport au témoin. Ce niveau ou ce pourcentage est appelé BMR (Benchmark response level). Suivant les recommandations de l'US EPA, le BMR correspond à une augmentation d'une fois l'écart-type par rapport à la moyenne du contrôle. Une augmentation d'1 écart type correspond ici à un niveau de réponse de 50%.

C'est majoritairement la BMCL, autrement dit la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMC, qui est considérée comme concentration critique pour l'élaboration de la VTR.

Le modèle retenu afin d'estimer la concentration critique est celui qui s'ajuste le mieux aux données expérimentales par la méthode du maximum de vraisemblance (Log Likelihood). Le modèle de Hill a été retenu ici pour l'estimation de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 90%³ d'une concentration correspondant à une augmentation de 50% de la réponse par rapport au groupe non exposé ; ce modèle est celui dont le maximum de vraisemblance se rapproche le plus du modèle « full ».

Les $BMC_{0,5}$ et $BMC_{0,5L_{90}}$ ont été calculées.

- $BMC_{0,5} = 136,9$ ppm
- $BMC_{0,5L_{90}} = 119,7$ ppm

Sur la base de ces résultats, il a été proposé de retenir comme concentration critique, la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 90% de la BMC, construite pour l'effet critique « perte de cellules ciliées externes » et pour un niveau d'effet correspondant à 50% du niveau d'effet observé dans le groupe témoin.

Soit $BMC_{0,5L_{90}} = 119,7$ ppm

5.6.3 Ajustement allométrique

L'objectif est de réduire la valeur de l'incertitude sur la variabilité inter-espèces afin de déterminer une concentration équivalente humaine (HEC). D'après la méthode de l'US EPA (1994), l'éthylbenzène est considéré comme un gaz de catégorie 3 (peu actif sur l'appareil respiratoire, transfert rapide des poumons à la circulation sanguine, effets principalement non respiratoires).

D'après les recommandations de l'US EPA, concernant l'utilisation de la dosimétrie par défaut pour un gaz de catégorie 3, la formule suivante peut être utilisée :

$$BMC_{0,5L_{90}HEC} = BMC_{0,5L_{90}} \times RGDR = BMC_{0,5L_{90}} \times (Hb/g)_{rat} / (Hb/g)_{Homme}$$

Avec (Hb/g) : coefficient de partition sang/air de l'éthylbenzène

³ La limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% (« one-sided » ou un coté), utilisée par l'US EPA, est équivalente à la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 90% (« two-sided » ou deux cotés) utilisée par le RIVM.

Pour la substance éthylbenzène, le coefficient de partition sang/air pour l'animal est supérieur au coefficient de partition sang/air pour l'Homme ; l'US EPA préconise dans ce cas de retenir par défaut un RGDR égal à 1.

Soit $BMC_{0,5}L_{90\ HEC} = BMC_{0,5}L_{90} \times 1 = 119,7\ \text{ppm}$

5.6.4 Ajustement temporel

Les animaux ont été exposés 6 heures par jour, 6 jours par semaine pendant 13 semaines. Pour tenir compte de la discontinuité de l'exposition, un ajustement temporel a été effectué :

$BMC_{0,5}L_{90\ HEC\ ADJ} = BMC_{0,5}L_{90\ HEC} \times (6/24) \times (6/7) = 119,7 \times (6/24) \times (6/7) = 25,6\ \text{ppm}$

5.6.5 Choix des facteurs d'incertitude

Le calcul des VTR à partir de la $BMC_{0,5}L_{90\ HEC\ ADJ}$ a été effectué à l'aide des facteurs d'incertitude suivants (Anses, 2015) :

- Variabilité inter-espèces (UF_A)

Pour tenir compte de la variabilité inter-espèces, un ajustement allométrique a été réalisé et a permis de calculer une dose équivalente humaine, à l'aide de l'équation précédemment citée. Pour tenir compte de la variabilité toxicodynamique et d'incertitudes résiduelles, un facteur d'incertitude supplémentaire a été fixé à 2,5 selon les recommandations de l'IPCS (IPCS, 2005) et sur la base des pratiques de l'Anses.

$UF_{A-TD} = 2,5$ (variabilité inter-espèces)

- Variabilité interindividuelle (UF_H)

Le facteur 10 est conservé par défaut lors de l'utilisation d'études réalisées chez l'animal, pour tenir compte de la variabilité au sein de l'espèce humaine et des populations sensibles (enfants, notamment, en lien avec l'asthme).

$UF_H = 10$ (variabilité interindividuelle)

- Transposition d'une exposition subchronique à chronique (UF_S), uniquement pour la construction de la VTR chronique

La durée de l'étude clé sélectionnée, considérée en toxicologie comme « subchronique » (les animaux ont été exposés 5 jours par semaine pendant 13 semaines), correspond approximativement à 10 % de la vie des animaux, ce qui, chez l'Homme, correspondrait à environ 7 ans d'exposition selon les conventions.

De même, les données sont insuffisantes afin d'évaluer si des effets similaires pourraient apparaître suite à une exposition chronique à des concentrations inférieures à celles testées dans les études subchroniques.

Ainsi, les experts de l'Anses ont décidé d'appliquer une valeur de 3 pour ce facteur.

UFs = 3 (extrapolation d'une exposition subchronique à chronique)

5.6.6 Proposition de VTR subchronique et chronique par voie respiratoire

Tableau 22 : VTR chronique et subchronique par voie respiratoire

Effet critique Etude source	Dose critique	UF	VTR
Effet ototoxique Perte de cellules ciliées externes dans l'organe de Corti chez le rat <i>Gagnaire et al., 2007</i>	BMC _{0,5} L ₉₀ = 119,7 ppm (modèle de Hill – logiciel PROAST 38.9) BMC _{0,5} L ₉₀ HEC ADJ = 25,6 ppm	25	VTR subchronique 1 ppm (4,3 mg.m ⁻³)
		UF _A 2,5 UF _H 10	VTR chronique 0,34 ppm (1,5 mg.m ⁻³)
		75	
		UF _A 2,5 UF _H 10 UF _S 3	

5.6.7 Niveau de confiance

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

- Niveau de confiance dans la nature et la qualité des données :
 - o Fort pour la VTR subchronique
 - o Moyen pour la construction de la VTR chronique en l'absence d'étude chronique.
- Niveau de confiance dans le choix de l'effet critique et le mode d'action : fort
- Niveau de confiance dans choix de l'étude clé : fort
- Niveau de confiance dans le choix de la dose critique : fort

En l'état actuel des connaissances, le niveau de confiance global est donc **moyen/fort** pour la VTR chronique et **fort** pour la VTR subchronique.

6 Conclusions du CES

La VTR aiguë élaborée par l'ATSDR étant de bonne qualité et répondant aux exigences de l'Anses en termes de méthode de construction est retenue en tant que VTR aiguë (Tableau). Un niveau de confiance moyen/fort a été attribué à cette VTR.

Tableau 22 : VTR aiguë par voie respiratoire pour l'éthylbenzène

Effet critique Etude source	Dose critique	UF	VTR
Ototoxicité Déplacement du seuil auditif <i>Cappaert et al., 2000 : étude 5 jours chez le rat</i>	BMCL _{HEC} = 154,26 ppm (669,49 mg.m ⁻³) après ajustement dosimétrique d'une BMCL _{1SD} = 81,10 pmol/L	30 UF _{A-TD} 3 UF _H 10	MRL = 22 mg.m⁻³ (5 ppm)

Des VTR subchronique et chronique par voie respiratoire sont proposées pour l'éthylbenzène basé sur des effets ototoxiques (Tableau). Un niveau de confiance fort a été attribué à la VTR subchronique et moyen/fort à la VTR chronique.

Tableau 23 : VTR chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène

Effet critique Etude source	Dose critique	UF	VTR
Effet ototoxique Perte de cellules ciliées externes dans l'organe de Corti <i>Gagnaire et al., 2007 : étude 13 semaines chez le rat</i>	BMC _{0,5L90} = 119,7 ppm (modèle de Hill – logiciel PROAST 38.9) BMC _{0,5L90 HEC ADJ} = 25,6 ppm	25 UF _A 2,5 UF _H 10	VTR subchronique 1 ppm (4,3 mg.m ⁻³)
		75 UF _A 2,5 UF _H 10 UF _S 3	VTR chronique 0,34 ppm (1,5 mg.m ⁻³)

En évaluation des risques sanitaires chez l'Homme, on distingue trois types de durée d'exposition :

- Les expositions aiguës, de quelques heures à quelques jours ;
- Les expositions subchroniques, de quelques jours à quelques mois ;
- Les expositions chroniques, d'une ou de quelques années à la vie entière.

Le nature de la VTR (aiguë, subchronique, chronique) est déterminée en partie par la durée d'exposition des études toxicologiques mais également des besoins en évaluation de risques sanitaires.

**Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé :
le 12/05/2016.**

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

7.1 Publications scientifiques

- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). (2011) Documentation of the Threshold Limit Values (TLVs) and Biological Exposure Indices (BEIs) - Ethyl Benzene.
- AEGL (Acute Exposure Levels) (2009) Acute Exposure Guideline Levels (AEGLs) for ethylbenzene (CAS Reg. No. 100-41-4).
- Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail). (2007a) En partenariat avec le CSTB. Valeurs guides de qualité d'air intérieur : document cadre et éléments méthodologiques. (Afsset, Maisons-Alfort) 53 p.
- Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail). (2007b) Propositions de Valeurs Guides de qualité d'Air Intérieur. Formaldéhyde. (Afsset, Maisons-Alfort) 78p.
- Afsset (2009) Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. Procédure de qualification des émissions de composés organiques volatils par les matériaux de construction et produits de décoration. 75 pages, Maisons-Alfort
- American Chemistry Council. (2007) Voluntary children's chemical evaluation program (VCCEP). Tier I Pilot submission for ethylbenzene. American Chemistry Council. Toxicology Excellence for Risk Assessment.
- Andersson K., Fuxe. K., Nilsen. O.G., Toftgård. R., Eneroth. P., Gustafsson. JÅ. (1981) Production of discrete changes in dopamine and noradrenaline levels and turnover in various parts of the rat brain following exposure to xylene, *ortho*-, *meta*-, and *para*-xylene, and ethylbenzene. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 60:535-548.
- Angerer J., Wulf. H. (1985) Occupational chronic exposure to organic solvents. XI. Alkylbenzene exposure of varnish workers: effects on hematopoietic system. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 56:307-321.
- Anses (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation Environnement Travail). (2011) Proposition de valeurs guides de qualité d'air intérieur. Evolution de la méthode d'élaboration des valeurs guides de qualité d'air intérieur. (Anses, Maisons-Alfort) 79p.
- Anses (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation Environnement Travail). (2013) Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel – Coexposition professionnelle au bruit et aux substances chimiques. (Anses, Maisons-Alfort) 76p.
- Anses (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation Environnement Travail). (2015) Expertise en appui à l'étiquetage des produits d'ameublement. (Anses, Maisons-Alfort) 352p.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2010) Toxicological Profile for Ethylbenzene [ATSDR Tox Profile]. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Bakke O.M., Scheline. R.R. (1970) Hydroxylation of aromatic hydrocarbons in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 16:691-700.

- Bardodej Z., Bardodejova E. (1961) [Usefulness and application of exposure tests]. *Cesk Hyg* 6: 537-545. (article en tchèque)
- Bardodej Z., Bardodejova. E. (1970) Biotransformation of ethylbenzene, styrene, and alphamethylstyrene in man. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 31:206-209.
- Bardodej Z., Círek. A. (1988) Long-term study on workers occupationally exposed to ethylbenzene. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 32:1-5.
- Billionnet C., Gay E., Kirchner S., Leynaert B., Annesi-Maesano I. (2011) Quantitative assessments of indoor air pollution and respiratory health in a population-based sample of French dwellings. *Environ Res.* 111:425-434.
- Campo P., Lataye R., Loquet. G., Bonnet. P. (2001) Styrene-induced hearing loss: a membrane insult. *Hearing Research.* 154: 170-80.
- Campo P., Venet. T., Thomas. A., Cour. C., Brochard. C., Cosnier. F. (2014) Neuropharmacological and cochleotoxic effects of styrene. Consequences on noise exposures. *Neurotoxicol Teratol.* 44:113-20.
- Cappaert N.L.M., Klis. S.F.L., Muijser. H., de Groot. J.C.M.J., Kulig. B.M., Smoorenburg. G.F. (1999) The ototoxic effects of ethylbenzene in rats. *Hear. Res.* 137(1-2):91-102.
- Cappaert N.L.M., Klis. S.F.L., Baretta. A.B., Muijser. H., Smoorenburg. G.F. (2000) Ethyl benzene-induced ototoxicity in rats: a dose-dependent mid-frequency hearing loss. *J. Assoc. Res. Otolaryngol.* 1:292-299.
- Cappaert N.L.M., Klis. S.F.L., Muijser. H., Kulig. B.M., Smoorenburg. G.F. (2001) Simultaneous exposure to ethyl benzene and noise synergistic effects on outer hair cells. *Hear. Res.* 162:67-79.
- Cappaert N.L.M., Klis. S.F.L., Muijser. H., Kulig. B.M., Ravensbery. L.C., Smoorenburg. G.F. (2002) Differential susceptibility of rats and guinea pigs to the ototoxic effects of ethylbenzene. *Neurotoxicol. Teratol.* 24:503-510.
- Casto B.C., Hatch. G.G. (1977) Progress Report NIH-NCI-N01-CP-45615. p. 1-24.
- CE (2008) Commission Européenne. Draft Risk Assessment Report – Ethylbenzene. 224 pages, Dortmund
- Charest-Tardif G., Tardif. R., Krishnan. K. (2006) Inhalation pharmacokinetics of ethylbenzene in B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 210(1-2):63-69.
- Chen. G.D., Chi. L.H., Kostyniak. P.J., Henderson. D. (2007) Styrene induced alterations in biomarkers of exposure and effects in the cochlea: mechanisms of hearing loss. *Toxicol Sci.* 98:167-177.
- Chen. C.S., Hseu. Y.C., Liang. S.H., *et al.* (2008) Assessment of genotoxicity of methyl-tert-butyl ether, benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene to human lymphocytes using comet assay. *J Hazard Mater.* 153(1-2):351-356.
- Chin. B.H., McKelvey. J.A., Tyler. T.R., *et al.* (1980a) Absorption, distribution, and excretion of ethylbenzene, ethylcyclohexane, and methylethylbenzene isomers in rats. *Bull Environ Contam Toxicol.* 24:477-483.
- Chin. B.H., McKelvey. J.A., Calisti. L.J., *et al.* (1980b) A comparison of in vivo and in vitro (tissue explant) techniques: Metabolic profile of ethylbenzene in the rat and the dog. *Bull Environ Contam Toxicol.* 25:241-245.

- CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) (2000) IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some industrial chemicals. Monographs on ethylbenzene. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 77:227-241.
- Clay. P. (2001) Ethylbenzene: In vivo mouse liver unscheduled DNA synthesis assay. Brussels, Belgium: CEFIC Styrene Steering Committee.
- Climie. I.J.G., Hutson. D.H., Stoydin. G. (1983) The metabolism of ethylbenzene hydroperoxide in the rat. *Xenobiotica.* 13:611-618.
- Cometto-Muñiz. J.E., Cain. W.S. (1995) Relative sensitivity of the ocular trigeminal, nasal trigeminal and olfactory systems to airborne chemicals. *Chem. Senses* 20:191-198.
- Cragg. S.T., Clarke. E.A., Daly. I.W., Miller. R.R., Terrill. J.B., Ouellette. RE. (1989) Subchronic inhalation toxicity of ethylbenzene in mice, rats, and rabbits. *Fundam. Appl. Toxicol.* 13(3):399-408.
- De Ceaurriz. J.C., Micillino. J.C., Bonnet. P., *et al.* (1981) Sensory irritation caused by various industrial airborne chemicals. *Toxicol Lett (Amst).* 9:137-144.
- Dean. B.J., Brooks. T.M., Hodson-Walker. G., *et al.* (1985) Genetic toxicology testing of 41 industrial chemicals. *Mutat Res.* 153:57-77.
- Degirmenci. E., Ono. Y., Kawara. O., *et al.* (2000). Genotoxicity analysis and hazardousness prioritization of a group of chemicals. *Water Sci Technol.* 42(7-8):125-131.
- Dennison. J.E., Andersen. M.E., Yang. R.S.H. (2003) Characterization of the pharmacokinetics of gasoline using PBPK modeling with a complex mixtures chemical lumping approach. *Inhal Toxicol.* 15:961-986.
- Dennison. J.E., Andersen. M.E., Clewell. H.J., *et al.* (2004) Development of a physiologically based pharmacokinetic model for volatile fractions of gasoline using chemical lumping analysis. *Environ Sci Technol.* 38(21):5674-5681.
- Doi. A.M., Hill. G., Seely. J., Hailey. J.R., Kissling. G., Bucher. J.R. (2007). α 2u-Globulin Nephropathy and Renal Tumors in National Toxicology Program Studies. *Toxicol Pathol.* 2007; 35(4): 533–540.
- Donner. M., Maki-Paakkanen. J., Norppa. H., Sorsa. M., Vainio. H. (1980) Genetic toxicology of xylenes. *Mutat. Res.* 74:171-172
- Dutkiewicz. T., Tyras. H. (1967) A study of the skin absorption of ethylbenzene in man. *Brit J Ind Med.* 24:330-332.
- Elovaara. E., Engstrom. K., Vainio. H., *et al.* (1982) Unaltered metabolism of m-xylene in the presence of ethylbenzene. In: Hietanen. E., Laitinen. M., Hanninen. O., eds. Cytochrome P-450, biochemistry, biophysics and environmental implications. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Biomedical Press, 765-768.
- El Masry. A.M., Smith. J.N., Williams. R.T. (1956) The metabolism of alkylbenzenes: n-Propylbenzene and n-butylbenzene with further observations on ethylbenzene. *Biochem J.* 64:50-56.
- El Masry. A.M., Smith. J.N., Williams. R.T. (1958) The metabolism of alkylbenzenes: Phenylacetylene and phenylethylene (styrene). *Biochem J.* 68(2):199-204.
- Elovaara. E., Engstrom. K., Nickels. J., Aitio. A., Vainio. H. (1985) Biochemical and morphological effects of long-term inhalation exposure of rats to ethylbenzene. *Xenobiotica* 15:299-308.

- Engelhardt. G. (2006) *In vivo* micronucleus test in mice with 1-phenylethanol. *Arch. Toxicol.* 80:868-872.
- Engelke. M., Bergmann. U., Diehl. H.A. (1993) Fluidity of the microsomal membrane and cytochrome P450 reduction kinetics of pig liver microsomes as a consequence of organic solvent impact. *Xenobiotica.* 23(1):71-78.
- Engstrom. J., Bjurstrom. R. (1978) Exposure to xylene and ethylbenzene. II. Concentration in subcutaneous adipose tissue. *Scand J Work Environ Health.* 4:195-203.
- Engstrom. K., Riihimaki. V., Laine. A. (1984) Urinary disposition of ethylbenzene and m-xylene in man following separate and combined exposure. *Int Arch Occup Environ Health.* 54:355-363.
- Engstrom. K., Elovaara. E., Aitio. A. (1985) Metabolism of ethylbenzene in the rat during long-term intermittent inhalation exposure. *Xenobiotica.* 15:281-286.
- Ethylbenzene Producers Association. (1986). A four day inhalation study of ethylbenzene in the rat, mouse, and rabbit. Ethylbenzene Producers Association. Présenté à l'Environmental Protection Agency des États-Unis en vertu de l'article 8(d) de la *Toxic Substances Control Act*. OTS0513170.
- Faber. W.D., Roberts. L.S.G., Stump. D.G., Tardif. R., Krishnan. K., Tort. M., Dimond. S., Dutton. D., Moran. E., Lawrence. W. (2006) Two generation reproduction study of ethylbenzene by inhalation in Crl-CD rats. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* 77(1):10-21.
- Faber. W.D., Roberts. L.S.G., Stump. D.G., Beck. M., Kirkpatrick. D., Regan. K.S., Tort. M., Moran. E., Banton. M. (2007) Inhalation developmental neurotoxicity study of ethylbenzene in Crl-CD rats. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* 80:34-48.
- Florin. I., Rutberg. L., Curvall. M., *et al.* (1980) Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames test. *Toxicology.* 18:219-232.
- Frantik. E., Hornychova. M., Horvath. M. (1994) Relative acute neurotoxicity of solvents: isoeffective air concentrations of 48 compounds evaluated in rats and mice. *Environ. Res.* 66:173- 185.
- Freundt. K.J., Romer. K.G., Federsel. R.J. (1989) Decrease of inhaled toluene, ethyl benzene, m-xylene, or mesitylene in rat blood after combined exposure to ethyl acetate. *Bull Environ Contam Toxicol.* 42:495-498.
- Fuciarelli. A.F. (2000) Ethylbenzene two-week repeated-dose inhalation toxicokinetic study report. Research Triangle Park, NC: National Institute of Environmental Health Services.
- Gagnaire. F., Langlais. C. (2005) Relative ototoxicity of 21 aromatic solvents. *Arch Toxicol.* 79(6):346-354.
- Gagnaire. F., Langlais. C., Grossmann. S., Wild. P. (2007) Ototoxicity in rats exposed to ethylbenzene and to two technical xylene vapours for 13 weeks. *Arch. Toxicol.* 81(2):127-143.
- Gerarde. H.W. (1963) The aromatic hydrocarbons. Chap. XXX. *In: Patty, F.A. (éd.) Industrial hygiene and toxicology.* Vol. II. 2e éd. rév. New York (NY) : Interscience Publishers. p. 1219-1240.
- Gibson. D.P., Brauningner. R., Shaffi. H.S., *et al.* (1997) Induction of micronuclei in Syrian hamster embryo cells: Comparison to results in the SHE cell transformation assay for national toxicology program test chemicals. *Mutat Res.* 392(1-2):61-70.
- Gromiec. JP., Piotrowski. JK. (1984) Urinary mandelic-acid as an exposure test for ethylbenzene. *Int Arch Occup Environ Health.* 55(1):61-72.

- Haddad. S., Tardif. R., Charest-Tardif. G., *et al.* (1999) Physiological modeling of the toxicokinetic interactions in a quaternary mixture of aromatic hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol.* 161:249-257.
- Haddad. S., Charest-Tardif. G., Tardif. R., *et al.* (2000) Validation of a physiological modeling framework for simulating the toxicokinetics of chemicals in mixtures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 167:199-209.
- Haddad. S., Béliveau. M., Tardif. R., *et al.* (2001) A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicol Sci.* 63:125-131.
- Hard. G.C. (2002) Significance of the renal effects of ethylbenzene in rodents for assessing human carcinogenic risk. *Toxicol Sci.* 69:30-41.
- Hard. G.C., Johnson. K.J., Cohen. S.M. (2009) A comparison of rat chronic progressive nephropathy (CPN) with human renal disease - implications for human risk assessment. *Crit Rev Toxicol.* 39, 332–46.
- Hardin. B.D., Bond. G.P., Sikov. M.R., Andrew. F.D., Beliles. R.P., Niemeier. R.W. (1981) Testing of selected workplace chemicals for teratogenic potential. *Scand. J. Work Environ. Health* 7(Suppl. 4):66-75.
- Henderson. D., Bielefeld. E.C., Harris. K.C., Hu. B.H. (2006) The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. *Ear Hear.* 27:1-19.
- Holz. O., Scherer. G., Brodtmeier. S., Koops. F., Wamcke. K., Krause. T., Austen. A., Angerer. J., Tricker. A.R., Adlkofer. F., *et al.* (1995) Determination of low level exposure to volatile aromatic hydrocarbons and genotoxic effects in workers at a styrene plant. *Occup. Environ. Med.* 52:420-428.
- INERIS (2006) Institut national de l'environnement industriel et des risques. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques – Ethylbenzène. 23 pages, Verneuil-en-Halatte
- INERIS (2015) Institut national de l'environnement industriel et des risques. Portail des substances chimiques [base de données en ligne]. En ligne : <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/952> (date de consultation: 20/08/2015)
- INRS (Institut national de recherché et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles). (2010a) Fiche toxicologique – Ethylbenzène. FT 266 ; mise à jour 2010.
- INRS (Institut national de recherché et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles). (2010b) Fiche Demeter Ethylbenzène - N° DEM 003 – Mars 2010.
- Ivanov. S.V. (1962) Toxicity of ethylbenzene. *Tr. Voronezh. Gos. Med. Inst.* 47:80.
- Jang. J.Y., Droz. P.O., Kim. S. (2001) Biological monitoring of workers exposed to ethylbenzene and co-exposed to xylene. *Int Arch Occup Environ Health.* 74:31-37.
- Kaubisch. N., Daly. J.W., Jerina. D.M. (1972) Arene oxides as intermediate in the oxidative metabolism of aromatic compounds. Isomerization of methyl-substituted arene oxides. *Biochemistry.* 11:3080-3088.
- Kawai. T., Mizunuma. K., Yasugi. T., *et al.* (1991) Urinary methylhippuric acid isomer levels after occupational exposure to a xylene mixture. *Int Arch Occup Environ Health.* 63(1):69-75.

- Kawai. T., Yasugi. T., Mizunuma. K., *et al.* (1992) Comparative evaluation of urinalysis and blood analysis as means of detecting exposure to organic solvents at low concentrations. *Int Arch Occup Environ Health.* 64(4):223-234.
- Kerckaert. G.A., Brauninger. R., LeBoeuf. R.A., *et al.* (1996) Use of the syrian hamster embryo cell transformation assay for carcinogenicity prediction of chemicals currently being tested by the national toxicology program in rodent bioassays. *Environ Health Perspect.* 104(supp 5):1075-1084.
- Kiese. M., Lenk. W. (1974) Hydroxyacetophenones: Urinary metabolites of ethylbenzene and acetophenone. *Xenobiotica.* 4:337-343.
- Knecht. U., Reske. A., Voitowitz. H. (2000) Biological monitoring of standardized exposure to ethylbenzene: Evaluation of a biological tolerance (BAT) value. *Arch Toxicol.* 73:632-640.
- Kubo. T., Urano. K., Utsumi. H. (2002) Mutagenicity characteristics of 255 environmental chemicals. *J Health Sci.* 48(6):545-554.
- Ladefoged. O., Lam. H.R., Ostergaard. G., *et al.* (1998) Toxicity of the styrene metabolite, phenylglyoxylic acid, in rats after three months of oral dosing. *Neurotoxicology.* 19(4-5):721-738.
- Leddy. M.B., Phipps. D.W., Ridgway. H.F. (1995) Catabolite-mediated mutations in alternate toluene degradative pathways in *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* 177(16):4713-4720.
- Lewis, R.J. Sr. (1992) Sax's dangerous properties of industrial materials. 8e éd. New York (NY) : Van Nostrand Reinhold. p. 1579.
- Lopes. M.M., Tomé. D., *et al.* (2013) Analysis of the combined exposure to noise and ototoxic substances-pilot study. Occupational Safety and Hygiene - Proceedings of the International Symposium on Occupational Safety and Hygiene, SHO 2013.
- Loquet. G., Campo. P., Lataye. R., Cossec. B., Bonnet. P. (2000) Combined effects of exposure to styrene and ethanol on the auditory function in the rat. *Hearing Research.* 148: 173-180.
- Maltoni. C., Conti. B., Cotti. G., *et al.* (1985) Experimental studies on benzene carcinogenicity at the Bologna Institute of Oncology: Current results and ongoing research. *Am J Ind Med.* 7:415-446.
- Maltoni. C., Ciliberti. A., Pinto. C., *et al.* (1997) Results of long-term experimental carcinogenicity studies of the effects of gasoline, correlated fuels, and major gasoline aromatics on rats. *Ann N Y Acad Sci.* 837:15-52.
- Marchand A, Aranda-Rodriguez R, Tardif R, Nong A, Haddad S. (2015) Human inhalation exposures to toluene, ethylbenzene, and m-xylene and physiologically based pharmacokinetic modeling of exposure biomarkers in exhaled air, blood, and urine. *Toxicol Sci.* 2015 Apr;144(2):414-24.
- Martins. P.C., Valente. J., *et al.* (2012) Airways changes related to air pollution exposure in wheezing children. *European Respiratory Journal.* 39(2): 246-253.
- Matsumoto. T., Koga. M., Sata. T., Kadoya. T., Shigematsu. A. (1992) The changes of gasoline compounds in blood in a case of gasoline intoxication. *Clinical Toxicology* ; Volume 30, Issue 4, 1992, Pages 653-662.
- McGregor. D.B., Brown. A., Cattanach. P., *et al.* (1988) Responses of the L5178Y tk+/tk- mouse lymphoma cell forward mutation assay: III. 72 Coded chemicals. *Environ Mol Mutag.* 12:85-154.

- Mellert. W., Deckhardt. K., Kaufmann. W., *et al.* (2007) Ethylbenzene: 4- and 13-week rat oral toxicity. *Arch Toxicol.* 81:361-370.
- Midorikawa. K., Uchida. T., Okamoto. Y., Toda C., Sakai. Y., Ueda. K., Hirakua. Y., Murata. M., Kawanishi. S., Kojima. N. (2004) Metabolic activation of carcinogenic ethylbenzene leads to oxidative DNA damage. *Chem. Biol. Interact.* 150:271-281.
- Mohtashamipur. E., Norpoth. K., Woelke. U., *et al.* (1985) Effects of ethylbenzene, toluene, and xylene on the induction of micronuclei in bone marrow polychromatic erythrocytes of mice. *Arch Toxicol.* 58:106-109.
- Molnar. J., Katalin. A., Naray. M. (1986) Changes in the rat's motor behaviour during 4-hr inhalation exposure to preanesthetic concentrations of benzene and its derivatives. *Acta Physiol. Hung.* 67(3):349-354.
- Moscato. G., Biscaldi. G., Cottica. D., Pugliese. F., Candura. S., Candura. F. (1987) Occupational asthma due to styrene: two case reports. *J. Occup. Med.* 29:957-960.
- Mutti. A., Falzoi. M., Romanelli. A., Bocchi. M.C., Ferroni. C., Franchini. I. (1988) Brain dopamine as a target for solvent toxicity: effects of some monocyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicology.* 49:77-82.
- Naskali. L., Engelke. M., Tahti. H., *et al.* (1993) The effects of selected organic solvents on rat synaptosomal membrane fluidity and integral enzyme activities. *Neurosci Res Commun.* 13(1):27-35.
- Naskali. L., Oksanen. H., Tahti. H. (1994) Astrocytes as targets for CNS effects of organic solvents *in vitro*. *Neurotoxicology.* 15(3):609-612.
- Nestmann. E.R., Lee. E.G., Matula. T.I., *et al.* (1980) Mutagenicity of constituents identified in pulp and paper mill effluents using the Salmonella/mammalian-microsome assay. *Mutat Res.* 79:203-212.
- Nestmann. E.R., Lee. E.G. (1983) Mutagenicity of constituents of pulp and papermill effluent in growing cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res.* 119:273-280.
- Nielsen. G.D., Alarie. Y. (1982) Sensory irritation, pulmonary irritation, and respiratory stimulation by airborne benzene and alkylbenzenes: Prediction of safe industrial exposure levels and correlation with their thermodynamic properties. *Toxicol Appl Pharmacol.* 65:459-477.
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health). (1981) Teratologic assessment of ethylbenzene and 2-ethoxyethanol. Cincinnati (OH) : National Institute for Occupational Safety and Health. PB83208074.
- Nong. A., Charest-Tardif. G., Tardif. R., *et al.* (2007) Physiologically based modeling of the inhalation pharmacokinetics of ethylbenzene in B6C3F1 mice. *J Toxicol Environ Health A.* 70(21):1838-1848.
- Norppa. H., Vainio. H. (1983) Induction of sister-chromatid exchanges by styrene analogues in cultured human lymphocytes. *Mutat Res.* 116:379-387.
- NTP (National Toxicology Program). (1986) Toxicology and carcinogenesis studies of xylenes (mixed) (60% m-xylene, 14% p-xylene, 9%-xylene, and 17% ethylbenzene) in F334/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program. NTP TR 327.

- NTP (National Toxicology Program). (1990) Toxicology and carcinogenesis studies of a-methylbenzyl alcohol in F344/N Rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program. No. 369.
- NTP (National Toxicology Program). (1992) Toxicity studies of ethylbenzene in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). Research Triangle Park (NC) : National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program. NIH Publication No. 92-3129.
- NTP (National Toxicology Program). (1999) Toxicology and carcinogenesis studies of ethylbenzene (CAS No. 100-41-4) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation study). Research Triangle Park (NC) : US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program. NTP TR 466; NIH Publication No. 99-3956.
- OEHHA (California Office of Environmental Health Hazard Assessment). (2000) Chronic toxicity summary for ethylbenzene. Sacramento, CA.
- OEHHA (California Office of Environmental Health Hazard Assessment). (2007) Long-term Health Effects of Exposure to Ethylbenzene.
- Ogata. M., Taguchi. T. (1988) Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography. *Environ Health*. 61(1/2):131-140.
- OMS (Organisation Mondiale de la santé). (2006) Development of WHO guidelines for indoor air quality, Report on a working group meeting.
- OMS (Organisation Mondiale de la santé). (2009) WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. WHO Regional Office for Europe.
- OMS (Organisation Mondiale de la santé). (2010) WHO guidelines for indoor air quality: selected pollutants. WHO European Centre for Environment and Health, Bonn Office. WHO Regional Office for Europe. 484 p.
- OQAI (Observatoire de la qualité de l'air intérieur) (2006). Campagne nationale Logements : État de la qualité de l'air dans les logements français, Rapport final référencé DDD/SB- 2006-57, Kirchner S., Arenes J-F., Cochet C. et al. ; Novembre 2006 – 165 pages
- Pryor. G., Rebert. C., Kassay. K., *et al.* (1991) The hearing loss associated with exposure to toluene is not caused by a metabolite. *Brain Res Bull*. 27:109-113.
- Romanelli. A., Falzoi. M., Mutti. A., Bergamaschi. E., Franchini. I. (1986) Effects of some monocyclic aromatic solvents and their metabolites on brain dopamine in rabbits. *J. Appl. Toxicol*. 6(6):431-438.
- Romer. K.G., Federsel. R.J., Freundt. K.J. (1986) Rise of inhaled toluene, ethyl benzene, m-xylene, or mesitylene in rat blood after treatment with ethanol. *Bull Environ Contam Toxicol*. 37:874-876.
- Saghir. S.A., Rick. D.L., McClymont. E.L., Zhang. F., Bartels. M.J., Bus. J.S. (2009) Mechanism of ethylbenzene-induced mouse-specific lung tumor: metabolism of ethylbenzene by rat, mouse, and human liver and lung microsomes. *Toxicol. Sci*. 107:352-366.
- Saghir. S.A., Zhang. F., Rick. D.L., Kan. L., Bus. J.S., Bartels. M.J. (2010) *In vitro* metabolism and covalent binding of ethylbenzene to microsomal protein as a possible mechanism of ethylbenzene-induced mouse lung tumorigenesis. *Regul. Toxicol. Pharmacol*. 57:129-135.

- Saillenfait. A.M., Gallissot. F., More. G., Bonnet. P. (2003) Developmental toxicities of ethylbenzene, ortho-, meta-, para-xylene and technical xylene in rats following inhalation exposure. *Food Chem. Toxicol.* 41(3):415-429.
- Saillenfait. A.M., Gallissot. F., Sabaté. J.P., Bourges-Abella. N., Cadot. R., Morel. G., Lambert. A.M. (2006) Developmental toxicities of combined ethylbenzene and methylethylketone administered by inhalation to rats. *Food Chem. Toxicol.* 44(8):1287-1298.
- Saillenfait. A.M., Gallissot. F., Sabaté. J.P., Bourges-Abella. N., Muller. S. (2007) Developmental toxic effects of ethylbenzene to toluene alone and in combination with butyl acetate in rats after inhalation exposure. *J. Appl. Toxicol.* 27(1):32-42.
- Santé Canada. (2014) Ébauche du rapport d'évaluation préalable Éthylbenzène - Numéro de registre du Chemical Abstracts Service 100-41-4 - Environnement Canada.
- Seely. J.C., Haseman. J.K., Nyska. A., *et al.* (2002) Effect of chronic progressive nephropathy on the incidence of renal tubule cell neoplasms in control male F344 rats. *Toxicol Pathol.* 30(6):681-686.
- Seidel. S.D., Schisler. M.R., Kleinert. K.M. (2006) Evaluation of ethylbenzene in the mouse lymphoma (L5178Y TK+/-) forward mutation assay. Arlington, VA: American Chemistry Council.
- Sikkema. J., De Bont. J.A.M., Poolman. B. (1995) Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol Rev.* 59(2):201-222.
- Sliwiska-Kowalska. M., Zamyslowska-Szmytke. E., Szymczak. W., Kotylo. P., Fiszer. M., Dudarewicz. A., Wesolowski. W., Pawlaczyk-Luszczynska. M., Stolarek. R. (2001) Hearing loss among workers exposed to moderate concentrations of solvents. *Scand. J. Work Environ. Health.* 27(5):335-342.
- Smith. J.N., Smithies. R.H., Williams. R.T. (1954a) The metabolism of alkylbenzenes. Stereochemical aspects of the biological hydroxylation of ethylbenzene to methylphenylcarbinol. *Biochem J.* 56:320-324.
- Smith. J.N., Smithies. R.H., Williams. R.T. (1954b) The metabolism of alkylbenzenes. (a) Glucuronic acid excretion following the administration of alkylbenzenes. (b) Elimination of toluene in the expired air of rabbits. *Biochem J.* 56:317-320.
- Smyth. H.F., Carpenter. C.P., Weil. C.S., Pozzani. U.C., Streigel. J.A. (1962) Range finding toxicity data: list IV. *Am. Ind. Hyg. J.* 23:95-97.
- Sram. R.J., Beskid. O., Binkova. B., Rossner. P., Smerhovsky. Z. (2004) Cytogenetic analysis using fluorescence in situ hybridization (FISH) to evaluate occupational exposure to carcinogens. *Toxicol. Lett.* 149:335-344.
- Sollenberg. J., Smallwood. A.W., Lowry. L.K. (1985) Determination of mandelic and phenylglyoxylic acids in rat urine by high- performance liquid chromatography and by isotachopheresis. *J Chromatogr.* 343:175-178.
- Stott. W.T., Johnson. K.A., Bahnemann. R., Day. S.J., McGuirk. R.J. (2003) Evaluation of potential modes of action of inhaled ethylbenzene in rats and mice. *Toxicol. Sci.* 71(1):53-66.
- Stump. D.G. (2004) A 28-day inhalation splenic antibody formation study of ethylbenzene in rats. Arlington, VA: American Chemistry Council.:1-398.
- Sullivan. H.R., Miller. W.M., McMahon. R.E. (1976) Reaction pathways of in vivo stereoselective conversion of ethylbenzene to (-)-mandelic acid. *Xenobiotica.* 6:49-54.

- Tardif. R., Charest-Tarif. G., Brodeur. J., *et al.* (1997) Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* 144:120-134.
- Tegeris. J.S., Balster. R.L. (1994) A comparison of the acute behavioral effects of alkylbenzenes using a functional observational battery in mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 22:240-250.
- Toda. C., Uchida. T., Midorikawa. K., Murata. M., Hiraku. Y., Okamoto. Y., Ueda. K., Kojima. N., Kawanishi. S. (2003) DNA damage by ethylbenzenehydroperoxide formed from carcinogenic ethylbenzene by sunlight irradiation. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 304:638-642.
- Toftgård. R., Nilsen. O.G. (1982) Effects of xylene and xylene isomers on cytochrome P-450 and *in vitro* enzymatic activities in rat liver, kidney and lung. *Toxicology.* 23: 197-212.
- Ungváry. G., Tatrai. E. (1985) On the embryotoxic effects of benzene and its alkyl derivatives in mice, rats and rabbits. *Arch. Toxicol.* 8(Suppl.):425-430.
- Ungváry. G. (1986) Solvent effects on reproduction : Experimental toxicity. *Prog Clin Biol Res.* 220:169-177.
- US-EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1991) Alpha2u-Globulin: Association with chemically induced renal toxicity and neoplasia in the male rat. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency. EPA625391019F.
- US-EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1991) Integrated risk information system (IRIS) for ethylbenzene, carcinogenicity assessment.
- Vaalavirta. L., Tähti. H. (1995a) Astrocyte membrane Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase and Mg⁽²⁺⁾-ATPase as targets of organic solvent impact. *Life Sci.* 57(24):2223-2230.
- Vaalavirta. L., Tähti. H. (1995b) Effects of selected organic solvents on the astrocyte membrane ATPase *in vitro*. *Clin Exper Pharmacol Physiol.* 22(4):293-294.
- van Kleef. R.G.D.M., Henk. P.M., Vijverberg. H.P.M., *et al.* (2008) Selective inhibition of human heteromeric alpha9alpha10 nicotinic acetylcholine receptors at a low agonist concentration by low concentrations of ototoxic organic solvents. *Toxicol In Vitro.* 22(6):1568-1572.
- Venet. T., Campo. P., Thomas. A., Cour. C., Rieger. B., Cosnier. F. (2015) The tonotopicity of styrene-induced hearing loss depends on the associated noise spectrum. *Neurotoxicol Teratol.* 2015 Mar-Apr;48:56-63.
- Wang. Y.R., Yand. D.Y., Zhang. M., *et al.* (2011) [The changes of blood neurotransmitter levels in workers occupationally exposed to ethylbenzene]. *Chinese journal of industrial hygiene and occupational diseases.* 29(2): 125-127. (article en chinois).
- Wallner. P., Kundi. M., *et al.* (2012) Indoor air in schools and lung function of Austrian school children. *Journal of Environmental Monitoring.* 14(7): 1976-1982.
- Wolf. M.A., Rowe. V.K., McCollister. D.D., Hollingsworth. R.L., Oyen. F. (1956) Toxicological studies of certain alkylated benzenes and benzene. *Arch. Ind. Health* 14:387-398.
- Wollny. H. (2000) Cell mutation assay at the thymidine kinase locus (TK +/-) in mouse lymphoma L5178Y cells (soft agar method) with ethylbenzene. Brussels, Belgium: CEFIC.
- Yamasaki. Y. (1984) [The determination of urinary metabolites of ethylbenzene by high- performance liquid chromatography]. 96:531-535. (article en japonais).

- Yant. W.P., Schrenk. H.H., Waite. C.P., Patty. F.A. (1930) Acute response of guinea pigs to vapors of some new commercial organic compounds. II. Ethylbenzene. *Public Health Rep.* 45:1241-1250.
- Zhang. M., Wang. Y.R., Yang. D.Y., *et al.* (2011) [The neurobehavioral effects of population occupationally exposed to ethylbenzene]. *Chinese journal of industrial hygiene and occupational diseases.* 29(2): 128-130. (article en chinois).
- Zhang. M., Wang. Y., *et al.* (2013) Ethylbenzene-induced hearing loss, neurobehavioral function, and neurotransmitter alterations in petrochemical workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine.* 55(9): 1001-1006.
- Zeiger. E., Anderson. B., Haworth. S., *et al.* (1992) Salmonella mutagenicity tests: V. Results from the testing of 311 chemicals. *Environ Mol Mutagen.* 19(Supplement 21):2-141.

7.2 Normes

NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

ANNEXES

Annexe 1 : Recherche bibliographique complémentaire sur la période [2012-2014]

Choix des mots clés:

Ethylbenzene

Exposure / Inhal* / Stud* / Long-term / Acute / Chronic / Subchronic

Effect* / sensitivity / health / mortality / susceptibility / toxic*

Etudes chez l'Homme

Man / Human / Occupation* / Workers

Etudes chez l'animal

Mice / mouse / rat / guinea pig / rabbit

Equations de recherche :

Requête SCOPUS

TITLE-ABS-KEY (ethylbenzene)

AND

(TITLE-ABS-KEY (exposure) OR TITLE-ABS-KEY (inhal*) OR TITLE-ABS-KEY (stud*) OR TITLE-ABS-KEY (long-term) OR TITLE-ABS-KEY (acute) OR TITLE-ABS-KEY (chronic) OR TITLE-ABS-KEY (subchronic) OR TITLE-ABS-KEY (effect*) OR TITLE-ABS-KEY (sensitivity) OR TITLE-ABS-KEY (health) OR TITLE-ABS-KEY (mortality) OR TITLE-ABS-KEY (susceptibility) OR TITLE-ABS-KEY (toxic*))

AND

(TITLE-ABS-KEY (man) OR TITLE-ABS-KEY (human) OR TITLE-ABS-KEY (occupation*) OR TITLE-ABS-KEY (workers) OR TITLE-ABS-KEY (mice) OR TITLE-ABS-KEY (rat) OR TITLE-ABS-KEY (guinea pig) OR TITLE-ABS-KEY (rabbit))

AND

(LIMIT-TO (PUBYEAR , 2014) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2013) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2012))

AND

(LIMIT-TO (LANGUAGE , "English"))

>>> **160 résultats** (décembre 2014)

Requête PUBMED

(("ethylbenzene"[Supplementary Concept] OR "ethylbenzene"[All Fields]) AND ("health"[MeSH Terms] OR "health"[All Fields])) AND (("2012/01/01"[PDAT] : "2014/12/31"[PDAT]) AND English[lang] AND (cancer[sb] OR tox[sb] OR cam[sb]))

>>> **51 résultats // 27 résultats sans doublons** (décembre 2014)

Total >>> 187 résultats (décembre 2014)

Sélection des articles d'intérêt :

A partir de ces 187 résultats et sur la base du titre et de l'abstract, 35 articles potentiellement pertinents ont été identifiés. Ces articles ont fait l'objet d'une analyse ; ils sont listés dans le tableau ci-après.

Tableau 1 : Références des 35 articles d'intérêt identifiés *via* la recherche bibliographique complémentaire

Référence	Substance(s) traitée(s) dans l'étude ou thématique abordée
Akdeniz, N., L. D. Jacobson, et al. (2013). "Health risk assessment of occupational exposure to hazardous volatile organic compounds in swine gestation, farrowing and nursery barns." <i>Environmental Sciences: Processes and Impacts</i> 15(3): 563-572.	Ethylbenzène
Amodio, M., G. De Gennaro, et al. (2013). "Assessment of impacts produced by anthropogenic sources in a little city near an important industrial area (Modugno, Southern Italy)." <i>The Scientific World Journal</i> 2013.	COV
Choi, S. H., T. G. Kwon, et al. (2014). "Surgical smoke may be a biohazard to surgeons performing laparoscopic surgery." <i>Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques</i> 28(8): 2374-2380.	Ethylbenzene
Da Rosa, J. C. F., M. Fiegenbaum, et al. (2013). "Cytogenetic evaluation and the association with polymorphisms of the CPY1A1 and NR1I3 genes in individuals exposed to BTEX." <i>Environmental Monitoring and Assessment</i> 185(7): 5883-5890.	BTEX
Demirel, G., T. Özden, et al. (2014). "Personal exposure of primary school children to BTEX, NO2 and ozone in Eskişehir, Turkey: Relationship with indoor/outdoor concentrations and risk assessment." <i>Science of the Total Environment</i> 473-474: 537-548.	BTEX
Domański, W. and Z. Makles (2012). "Chemical hazards when working with solvent glues." <i>Medycyna Pracy</i> 63(1): 31-38.	Ethylbenzène
Du, Z., J. Mo, et al. (2014). "Risk assessment of population inhalation exposure to volatile organic compounds and carbonyls in urban China." <i>Environment International</i> 73: 33-45.	Ethylbenzène
Ghosh, J. K. C., M. Wilhelm, et al. (2012). "Assessing the influence of traffic-related air pollution on risk of term low birth weight on the basis of land-use-based regression models and measures of air toxics." <i>American Journal of Epidemiology</i> 175(12): 1262-1274.	Ethylbenzene
Gwack, J., J. H. Lee, et al. (2012). "Acute Health Effects Among Military Personnel Participating in the Cleanup of the Hebei Spirit Oil Spill, 2007, in Taean County, Korea." <i>Osong Public Health and Research Perspectives</i> 3(4): 206-212.	Pétrole
Habeebullah, T. M. (2014). "Risk assessment of exposure to BTEX in the Holy City of Makkah." <i>Arabian Journal of Geosciences</i> : 1-8.	BTEX
Hard, G. C., M. I. Banton, et al. (2013). "Consideration of rat chronic progressive nephropathy in regulatory evaluations for carcinogenicity." <i>Toxicological Sciences</i> 132(2): 268-275.	Mode d'action
Kitwattanavong, M., T. Prueksasit, et al. (2013). "Health Risk Assessment of Petrol Station Workers in the Inner City of	BTEX

Bangkok, Thailand, to the Exposure to BTEX and Carbonyl Compounds by Inhalation." Human and Ecological Risk Assessment 19(6): 1424-1439.	
Kumar, A., B. P. Singh, et al. (2014). "Assessment of indoor air concentrations of VOCs and their associated health risks in the library of Jawaharlal Nehru University, New Delhi." Environmental Science and Pollution Research 21(3): 2240-2248.	Ethylbenzène
Li, L., H. Li, et al. (2014). "Pollution characteristics and health risk assessment of benzene homologues in ambient air in the northeastern urban area of Beijing, China." Journal of Environmental Sciences (China) 26(1): 214-223.	Ethylbenzène
Lim, S. K., H. S. Shin, et al. (2014). "Risk assessment of volatile organic compounds benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene (BTEX) in consumer products." Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues 77: 1502-1521.	Ethylbenzène
Liu, F. F., B. I. Escher, et al. (2014). "Mixture effects of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX) on lung carcinoma cells via a hanging drop air exposure system." Chemical Research in Toxicology 27(6): 952-959.	Ethylbenzène
Lopes, M. M., D. Tomé, et al. (2013). Analysis of the combined exposure to noise and ototoxic substances-pilot study. Occupational Safety and Hygiene - Proceedings of the International Symposium on Occupational Safety and Hygiene, SHO 2013.	Ethylbenzène
Majumdar, D. and A. Srivastava (2012). "Volatile organic compound emissions from municipal solid waste disposal sites: A case study of Mumbai, India." Journal of the Air and Waste Management Association 62(4): 398-407.	COV
Martins, P. C., J. Valente, et al. (2012). "Airways changes related to air pollution exposure in wheezing children." European Respiratory Journal 39(2): 246-253.	Ethylbenzene
Mazzeo, D. E. C., S. T. Matsumoto, et al. (2013). "Application of micronucleus test and comet assay to evaluate BTEX biodegradation." Chemosphere 90(3): 1030-1036.	BTEX
Melnick, R. L., K. M. Burns, et al. (2012). "Chemically exacerbated chronic progressive nephropathy not associated with renal tubular tumor induction in rats: An evaluation based on 60 carcinogenicity studies by the national toxicology program." Toxicological Sciences 128(2): 346-356.	Mode d'action
Moore, N. P., L. G. McFadden, et al. (2013). "Gender differences in the incidence of background and chemically induced primary pulmonary neoplasms in B6C3F1 mice: A retrospective analysis of the National Toxicology Program (NTP) carcinogenicity bioassays." Experimental and Toxicologic Pathology 65(7-8): 1109-1115.	Mode d'action
Oiamo, T. H. and I. N. Luginaah (2013). "Extricating sex and gender in air pollution research: A community-based study on cardinal symptoms of exposure." International Journal of Environmental Research and Public Health 10(9): 3801-3817.	Populations sensibles
Park, S. A., S. Gwak, et al. (2014). "Assessment of occupational symptoms and chemical exposures for nail salon technicians	Ethylbenzène

in Daegu City, Korea." <i>Journal of Preventive Medicine and Public Health</i> 47(3): 169-176.	
Peluso, M., A. Munnia, et al. (2013). "Malondialdehyde-deoxyguanosine and bulky DNA adducts in schoolchildren resident in the proximity of the Sarroch industrial estate on Sardinia Island, Italy." <i>Mutagenesis</i> 28(3): 315-321.	COV
Peng, C. Y., S. L. Hsiao, et al. (2013). "Application of passive sampling on assessment of concentration distribution and health risk of volatile organic compounds at a high-tech science park." <i>Environmental Monitoring and Assessment</i> 185(1): 181-196.	Ethylbenzène
Proctor, S., K. Heaton, et al. (2014). "0019 The occupational JP8 exposure neuroepidemiology study; evaluation of neuropsychological effects." <i>Occup Environ Med</i> 71 Suppl 1: A1-2.	Carburant
Ramakrishnan, A., P. J. Lupo, et al. (2013). "Evaluating the effects of maternal exposure to benzene, toluene, ethyl benzene, and xylene on oral clefts among offspring in Texas: 1999-2008." <i>Birth Defects Research Part A - Clinical and Molecular Teratology</i> 97(8): 532-537.	Ethylbenzène
Siripongpokin, P., V. Cheevaporn, et al. (2014). "Health risk assessment and DNA damage of volatile organic compounds in car painting houses." <i>EnvironmentAsia</i> 7(2): 142-151.	COV
Tunsaringkarn, T., W. Siritwong, et al. (2012). "Occupational exposure of gasoline station workers to BTEX compounds in Bangkok, Thailand." <i>International Journal of Occupational and Environmental Medicine</i> 3(3): 117-125.	Ethylbenzene
Vyskocil, A., G. Truchon, et al. (2012). "A weight of evidence approach for the assessment of the ototoxic potential of industrial chemicals." <i>Toxicology and Industrial Health</i> 28(9): 796-819.	Ethylbenzene
Wallner, P., M. Kundi, et al. (2012). "Indoor air in schools and lung function of Austrian school children." <i>Journal of Environmental Monitoring</i> 14(7): 1976-1982.	Ethylbenzène
Wang, T., P. Bo, et al. (2014). "Benzene homologues in environmental matrixes from a pesticide chemical region in China: Occurrence, health risk and management." <i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i> 104(1): 357-364.	BTEX
Wu, X. M., Z. T. Fan, et al. (2012). "Exposures to volatile organic compounds (VOCs) and associated health risks of socio-economically disadvantaged population in a "hot spot" in Camden, New Jersey." <i>Atmospheric Environment</i> 57: 72-79.	Ethylbenzene
Zhang, M., Y. Wang, et al. (2013). "Ethylbenzene-induced hearing loss, neurobehavioral function, and neurotransmitter alterations in petrochemical workers." <i>Journal of Occupational and Environmental Medicine</i> 55(9): 1001-1006.	Ethylbenzène
Zhang, Y., Y. Mu, et al. (2012). "Levels, sources and health risks of carbonyls and BTEX in the ambient air of Beijing, China." <i>J Environ Sci (China)</i> 24(1): 124-130.	Ethylbenzène

Annexe 2 : Anatomie fonctionnelle du système auditif humain – Eléments de définition

L'oreille comporte 3 parties dont les fonctions dans la transmission du message auditif sont spécifiques :

- *l'oreille externe* (pavillon et conduit auditif) qui capte, amplifie et transmet jusqu'au tympan **les vibrations sonores** ;
- *l'oreille moyenne* (tympan et chaîne des osselets) qui sert d'intermédiaire entre l'air et l'oreille interne ; elle transforme le signal sonore **en vibrations mécaniques pour transmission à l'oreille interne** ;
- *l'oreille interne* (limaçon ou cochlée) assure la transduction des vibrations mécaniques en **vibrations hydromécaniques** dans les milieux liquidiens de l'oreille interne ; ces oscillations sont ensuite perçues par les cellules sensorielles recouvrant la membrane de l'organe de Corti, les cellules ciliées, qui assurent la **transduction du message sous forme d'impulsions électriques** qui vont être transmises aux nerfs auditifs.

Il existe 2 types de cellules ciliées :

- les **cellules ciliées internes** qui jouent le rôle de récepteurs auditifs ;
- les **cellules ciliées externes** qui assurent la mise en forme du signal, la modulation de la réponse de l'organe de Corti.

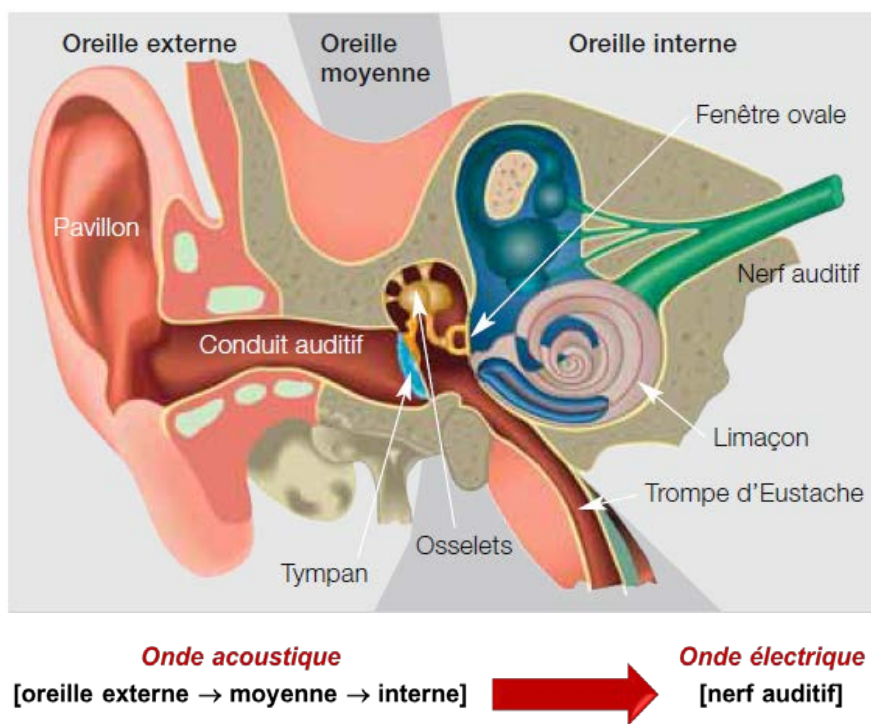


Figure 1 : Coupe transversale du système auditif humain

(d'après Suva (2006). Bruit dangereux pour l'ouïe aux postes de travail. Référence 44057.f.

http://www.schallundlaser.ch/fr/pdf/suva_bruit_travail.pdf)

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)